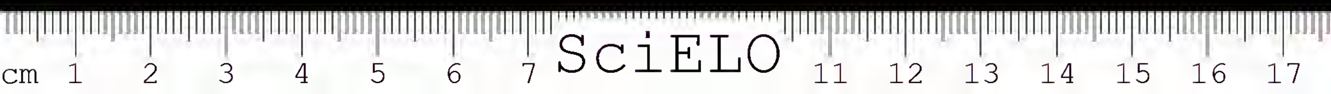
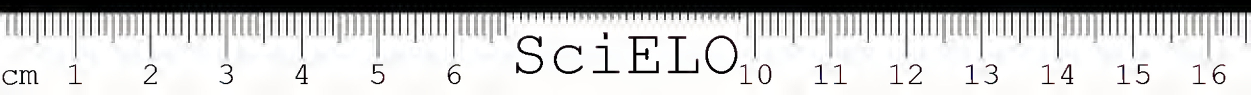
MEMÓRIAS INSTITUTO BUTANTAN

1972

VOLUME 36

SECRETARIA DE ESTADO DA SAUDE
COORDENADORIA DOS SERVIÇOS TÉCNICOS ESPECIALIZADOS
INSTITUTO BUTANTAN
SÃO PAULO — BRASIL




cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15 16

MEMÓRIAS
DO
INSTITUTO BUTANTAN

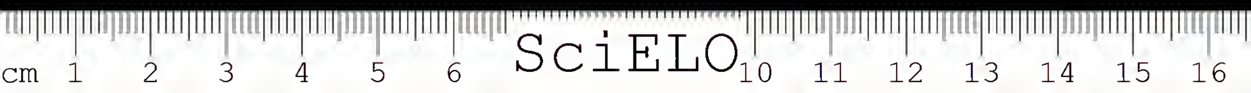


Serão fornecidas separatas dos trabalhos publicados nas "MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN", solicitando-se nesse caso o obséquio de enviar outras separatas, em permuta, para a Biblioteca do Instituto.

Tôda a correspondência editorial deve ser dirigida ao:

INSTITUTO BUTANTAN
Biblioteca
Caixa Postal 65
São Paulo — BRASIL

EXCHANGED DESIRED
PEDE-SE PERMUTA



INSTITUTO BUTANTAN

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
Secretario — Dr. Getulio Lima Junior

COORDENADORIA DE SERVIÇOS TÉCNICOS ESPECIALIZADOS
Coordenador — Prof. Dr. Otto Guilherme Bier

INSTITUTO BUTANTAN — DIRETORIA GERAL
Diretora — Dra. Jandyra Planet do Amaral

I — DIVISÃO DE MICROBIOLOGIA E IMUNOLOGIA

Diretor — *Dra. Jandyra Planet do Amaral*
Diretor Substituto — *Dr. Bruno Soerensen Cardozo*

a) *Serviço de Bacteriologia — Controle e Técnicas Auxiliares*
Diretor — Dr. Bruno Soerensen Cardozo

b) *Serviço de Imunologia*
Diretor — Dr. Raymundo Rolim Rosa

c) *Serviço de Virologia*
Diretor — Dr. René Correa

II — DIVISÃO DE BIOLOGIA

Diretor — *Dr. Alphonse Richard Hoge*

a) *Serviço de Animais Peçonhentos*
Diretor — Dr. Hélio Emerson Belluomini

b) *Serviço de Genética*
Diretor — Dr. Willy Beçak

III — DIVISÃO DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS E QUÍMICA

Diretor — *Dra. Alba Apparecida de Campos Lavras*

a) *Serviço de Bioquímica*
Diretor — Dra. Fajga Ruchla Mandelbaum

b) *Serviço de Farmacologia*
Diretor — Dra. Mina Fichman

c) *Serviço de Fisiologia*
Diretor — Dr. Saul Schenberg

d) *Serviço de Química Organica*
Diretor — Dr. Raymond Zelnik

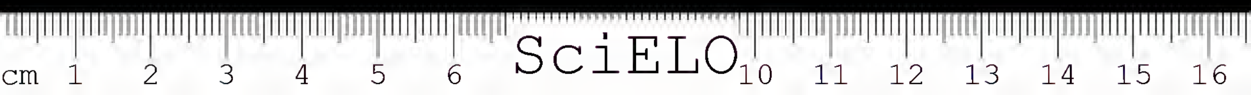
IV — DIVISÃO DE PATOLOGIA

Diretor — Dr. Jesus Carlos Machado

a) *Serviço de Fisiopatologia*
Diretor — Dra. Linda Nahas

Serviços Diretamente Ligados à Diretoria Geral

a) *Serviço de Veterinária*
Diretor — Dr. Feres Saliba



MEMORIAS DO INSTITUTO BUTANTAN

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

1 — *FINALIDADE*

As MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN são publicadas sob a orientação da Comissão Editorial, sendo que os conceitos emitidos são de inteira responsabilidade dos autores. Tem por finalidade a apresentação de trabalhos originais que contribuam para o progresso nos campos da Biologia e da Medicina, elaborados por especialistas nacionais ou estrangeiros que se enquadrem no REGULAMENTO DOS TRABALHOS.

2 — *REGULAMENTO DOS TRABALHOS*

2.1 *NORMAS GERAIS*

2.1.1. Os trabalhos devem ser inéditos e destinar-se exclusivamente à revista "MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN". Os artigos serão publicados a convite da Comissão Editorial.

2.1.2 *ESTRUTURA DO TRABALHO*

2.1.2.1 *Elementos preliminares*

a) cabeçalho — título do trabalho e nome do autor (es);

b) filiação científica e endereço para correspondência.

2.1.2.2 *Texto*

Sempre que possível deve obedecer à forma convencional do artigo científico:

a) *Introdução* — Estabelecer com clareza o objetivo do trabalho, relacionando-o com outros do mesmo campo e apresentando de forma sucinta a situação que se encontra o problema investigado. Extensas revisões de literatura devem ser substituidas por referências aos trabalhos mais recentes, onde tais revisões tenham sido apresentadas.

b) *Material e métodos* — A descrição dos métodos usados deve limitar-se ao suficiente para possibilitar ao leitor a perfeita compreensão e repetição dos métodos; as técnicas já descritas em outros trabalhos devem ser referidas somente por citação, a menos que tenham sido consideravelmente modificadas.

c) *Resultados* — Devem ser apresentados com clareza e, sempre que necessário, acompanhados de tabelas e material ilustrativos adequados.

d) *Discussão* — Deve restringir-se à apresentação dos dados obtidos e dos resultados alcançados, relacionando-se novas contribuições aos conhecimentos anteriores. Evitar hipóteses ou generalizações não baseadas nos resultados do trabalho.

e) *Conclusões* — devem ser fundamentadas no texto.

Dependendo do assunto do artigo, as divisões acima poderão ser modificadas de acôrdo com o esquema de trabalho, porém, o artigo deve conter obrigatoriamente:

a) Introdução;

b) Desenvolvimento do tema (com as divisões a critério do autor);

c) Conclusão.

Agradecimentos — devem ser mencionados antes das *Referências Bibliográficas.*

2.1.2.3 *Material de Referência*

Todo trabalho deve vir obrigatoriamente acompanhado de:

a) *RESUMO* — um no mesmo idioma do texto, outro em inglês, redigidos pelo(s) próprio(s) autor(s), devem expressar o conteúdo do artigo, salientando os elementos novos e indicando sua importância. O resumo na língua em que está redigido o trabalho deve ser colocado antes do texto; e o em inglês no final. Só excepcionalmente excederá a 200 palavras. Os títulos dos trabalhos devem ser traduzidos para o inglês.

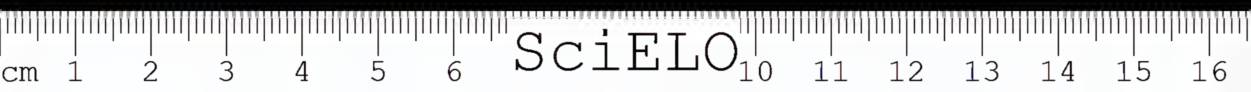
b) *UNITERMOS* — Correspondendo a palavras ou expressões que identifiquem o conteúdo, devem ser em número necessário para a completa descrição do assunto e assinalados com asteriscos os 3 unitermos principais. Para a escolha dos unitermos usar o vocabulário protótipo do campo especializado. *

c) *REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS* — Devem ser incluídas apenas as referências mencionadas no texto e arranjadas em ordem alfabética do sobrenome do autor, numeradas consecutivamente.

Periódico:

AMORIM, M. de F., MELLO, R. F. e SALIBA, F. — Envenenamento botrópico e crotálico. Contribuição para o estudo experimental comparado das lesões. *Mem. Inst. Butantan, 23:63,* 1950-51.

* Para as ciências da saúde usar o "Medical Subject Headings", com tradução em português realizada pelo Grupo de Bibliotecários Biomédicos da A.P.B.



Livros

BIER, O. — Bacteriologia e imunologia, 1, 13. ed. São Paulo, Melhoramentos, 1966.

As citações no texto devem ser em números índices, correspondendo às respectivas referências bibliográficas.

Exemplos:

As investigações sobre a fauna flebotomínica no Estado de São Paulo, foram feitas em várias ocasiões [1, 3, 4].

... método derivado de simplificação de armadilha de Disney[2] (1968).

Referências Bibliográficas (correspondentes aos números índices)

1. BARRETO, M. P. — *Observações sobre a biologia em condições naturais dos flebótomos do Estado de São Paulo* (Diptera Psychodidae); São Paulo, 1943. (Tese — Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo).

2. DISNEY, R. H. L. — Observaticns on a zoobosis: leishmaniosis in British Honduras. *J. appl. Ecol., 5:19,* 1968.

3. FORATTINI, O. P. — Algumas observações sobre Biologia dos flebótomos (Diptera, Psychodidae) em região da bacia do Rio Paraná (Brasil). *Arq. Fac. Hig. S. Paulo, 8:*15-136, 1954.

3. FORATTINI, O. P. — Novas observações sobre Biologia de flebótomos em condições naturais (Diptera, Psychodidae). *Arq. Fac. Hig. S. Paulo, 25:*209-15, 1960.

3 — *NORMAS PARA APRESENTAÇÃO DOS ORIGINAIS*

3.1 — *Datilografia* — Os originais devem ser datilografados, em 3 (três) vias, com espaço duplo, em uma só face, mantendo as margens laterais com 3 cm aproximadamente. Tôdas as páginas devem ser numeradas consecutivamente, com algarismos arábicos, no canto superior direito.

3.2 — *Tabelas* — Devem ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos e encabeçadas pelo seu título. Os dados apresentados em tabela não devem ser, em geral, repetidos no texto. As notas de rodapé das tabelas devem ser restritas ao mínimo possível e referidas por asteriscos.

3.3 — *Ilustrações* — (fotografias, desenhos, gráficos, etc) — As ilustrações devem ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos e citadas como Figuras. Todas as figuras serão identificadas fora da área de reprodução com: número, nome do autor, título abreviado do trabalho, indicação da página de texto onde deverão constar. As legendas devem ser apresentadas em folhas à parte. As ilustrações devem permitir perfeita reprodução em clichês até a redução mínima de 6,3 cm (largura da coluna do texto). Os desenhos devem ser feitos em papel vegetal e tinta nanquim preta e as letras com normógrafo, nunca datilogradas.



A Revista admite clichês (branco e preto) até 6 do texto, para cada trabalho, devendo os demais serem pagos pelo autor. Para clichês coloridos deverá haver prévia combinação entre a Comissão Editorial e o autor.

De cada trabalho serão tiradas 100 (cem) separatas, devendo o autor pagar as separatas que excedam a esse número, quando solicitar uma quantidade maior. As separatas em excesso devem ser solicitadas quando o manuscrito fôr encaminhado à Comissão Editorial.

Os trabalhos poderão ser redigidos, além da língua portuguesa, em: inglês, francês e espanhol. Outras línguas ficarão a critério da Comissão Editorial.

A reprodução total ou parcial dos trabalhos em outros periódicos — *com menção obrigatória da fonte* — dependerá de autorização prévia da Comissão Editorial.

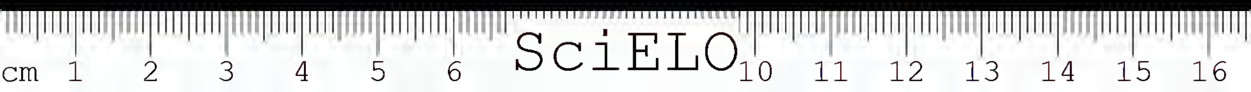
Para fins comerciais, será proibida a tradução e reprodução dos trabalhos publicados pela revista.



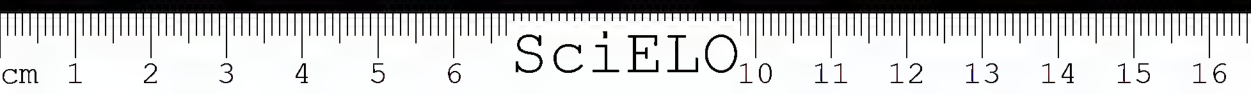
MEMORIAS DO INSTITUTO BUTANTAN

CONTEÚDO




cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16




cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

Mem. Inst. Butantan
36: 1-40, 1972.

ESTUDOS SOBRE A PREPARAÇÃO DO SORO ANTIBOTULÍNICO TIPO A *

EDISON PAULO TAVARES DE OLIVEIRA
Seção de Toxinas e Anatoxinas
Instituto Butantan

RESUMO — Não tendo sido produzido ainda no Brasil, os soros antibotulinicos o autor estudou a possibilidade de obtê-los no Serviço de Imunologia do Instituto Butantan pela hiperimunização de cavalos. Iniciou pelo preparo do Soro antibotulínico tipo A, experimentou vários meios de obtenção da toxina respectiva e obteve toxinas dosando ao redor do 800.000 D. M. M. para o camundongo as quais transformadas em anatoxinas para hiperimunizar equinos com esse material.

Verificou que o esquema da hiperimunização é fundamental para a obtenção de bons títulos neutralizantes e obtiveram finalmente plasma hiperimune contendo 160 U.A/ml. Esse soro após purificação e concentração apresentou um título de cerca de 1.400 UA/ml.

O Soro purificado e concentrado foi diluido para que contivesse 500 UA/ml. que já se encontra disponível para atender eventuais acidentes humanos.

UNITERMOS — Botulismo; envenenamento pela ingestão de conservas, contaminadas com toxina Botulínica.

INTRODUÇÃO

Importância do botulismo.

Dentro do quadro nosológico das intoxicações alimentares encontra-se o botulismo. É um envenenamento ocasionado pela ingestão de conservas alimentícias preparadas sem os devidos cuidados, contaminadas por bactérias anaeróbias pertencentes à espécie *Clostridium botulinum,* secretora do mais potente tóxico conhecido.

Um miligrama de toxina botulínica pura cristalizada contém ao redor de 1 milhão e 200 ml DMM para o cobaio (Van Heymingen, 1950).

Das intoxicações alimentares humanas o botulísmo é a mais drástica, sendo a mortalidade causada por ele variável entre 30 a 90 por cento nos casos não tratados e de 20 por cento nos casos tratados (Dumas, 1958).

O único tratamento curativo do botulismo é a soroterapia específica. O êxito da soroterapia reside sempre na precocidade do tratamento, por se tratar de uma toxina com afinidade principal pelo sistema nervoso após a impregnação deste, dificilmente regride o desenvolvimento da sintomatologia característica.

---

* Tese apresentada ao Instituto de Ciências Biomédicas, da Universidade de São Paulo, para a obtenção do título de Doutor.

Endereço para correspondência:
C.P. 65, São Paulo, Brasil.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 — *Obtenção da toxina botulínica tipo A*

3.1.1 — *Seleção de cepas toxígenas*

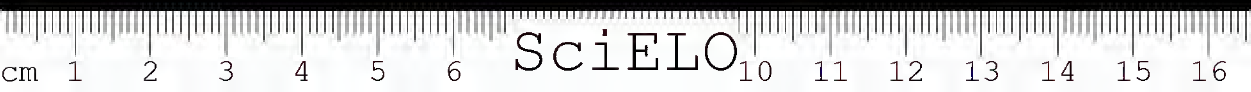
Para a obtenção da toxina botulínica tipo A, o primeiro cuidado foi selecionar cepas que apresentassem maior toxigênese. Existiam dez amostras na germoteca do Instituto Butantan, algumas das quais não eram repicadas desde 1937. Todas foram repicadas para meio de Tarozzi (1907); após incubação durante 24 horas a 37°C, foram elas submetidas à bacterioscopia e às provas de pureza, em aerobiose e anaerobiose. Em nenhuma amostra ocorreu, dentro de cinco dias de observação, crescimento em meios aeróbios; somente no meio anaeróbico é que ocorreu crescimento. Em seguida, foram semeadas em placas de Petri em anaerobiose contendo ágar simples glicosado, adicionado de 5% de sangue de carneiro desfibrinado, afim de observar se os aspectos das colônias eram semelhantes aos descritos para o *C. botulinum* tipo A. Segundo Zeissler (1930), nesse meio de cultura as colônias podem apresentar-se sob cinco aspectos diferentes; as que observamos mostravam somente um desses aspectos: tinham cor cinzenta brilhante, eram salientes e arredondadas e apresentavam bordos irregulares. Amostras colhidas dessas colônias foram submetidas novamente à bacterioscopia: os germes tinham a forma de bastonetes Gram-positivos, com bordos arredondados, isolados ou em pares; observaram-se também, com rara frequência, esporos subterminais, características estas do gênero *Clostridium*.

As cepas por nós experimentadas continham as seguintes indicações no fichário correspondente:

n.º 381-I.B. — Recebida do Dr. Toledo Melo. Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina de São Paulo. Indicações: "*Clostridium botulinum* tipo A, Grupo IX — Amostra 33, recebida da Dra. Hilda Heller em 3.12.31. San Francisco, Califórnia, U.S.A. — amostra 198 do Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina de São Paulo".

n.º 387-I.B. — Recebida do Dr. Toledo Melo. Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina de São Paulo. Indicações: "*Clostridium botulinum* tipo A, recebida da Dra. Hilda Heller em 3.12.31. Isolado em 1931 da cultura de sangue do coração de cobaia. Amostra HER 204 do Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina de São Paulo — 10.5.37".

n.º 388-I.B. — Recebida do Dr. Toledo Melo. Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina de São Paulo. Indicações: "*Clostridium botulinum* tipo A, recebida da Dra. Hilda Heller em 3.12.31. Isolado por I. C. Hall, de um surto em Prince, Colorado, U.S.A., em 1931. Amostra 205 — Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina de São Paulo — 10.5.32".



n.º 389-I.B. — Recebida do Dr. Toledo Melo. Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina de São Paulo. Indicações: "*Clostridium botulinum* tipo A, recebida da Dra. Hilda Heller em 3.12.31. Isolado nesse laboratório, de uma lata de conserva vinda da Itália em 1929. Amostra 206 — Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina de São Paulo — 10.5.32".

n.º 391-I.B. — Recebida do Dr. Toledo Melo. Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina de São Paulo. — Indicações: "*Clostridium botulinum* tipo A — Grupo VII, recebida da Dra. Hilda Heller em 3.12.31. Isolado em 1930 do trigo vindo de S. Joaquim Valley, California, U.S.A. Amostra HAJ 207 do Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina de São Paulo — 10.5.37".

n.º 392-I.B. — Recebida da Dra. Ida A. Bengtson, National Institute of Health, Washington, D.C., U.S.A. Indicações: "*Clostridium botulinum* tipo A. Cepa isolada de azeitonas — 9.6.37. Data 27.7.37".

n.º 394-I.B. — Recebida da Dra. Ida A. Bengtson, National Institute of Health, Washington, D.C., U.S.A. Indicações: "*Clostridium botulinum* tipo A".

n.º 395-I.B. — Recebida do Dr. J. B. Gunnison, que a obteve da coleção do Dr. K. F. Meyer. University of California, San Francisco, U.S.A., 3.8.37. Indicações: *Clostridium botulinum* tipo A".

n.º 62-I.P. — Recebida do Instituto Pasteur, Paris, enviada pelo Prof. A. R. Prévot em 1962. Indicações: "*Clostridium botulinum* tipo A".

n.º 193-I.P. — Recebida do Instituto Pasteur, Paris, enviada pelo Prof. A. R. Prévot, em 1962. Indicações: "*Clostridium botulinum* tipo A".

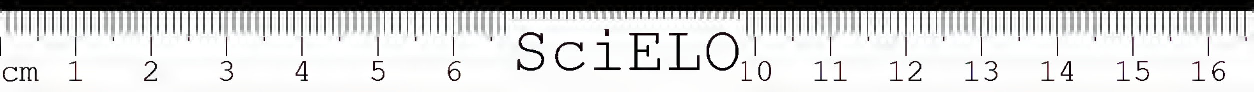
3.1.2 — *Preparo do meio de cultura*

O poder da toxigênese varia grandemente de uma raça para outra; algumas raças são muito ativas, enquanto outras são quase atóxicas. O meio de cultura desempenha também papel preponderante para a produção de toxina (Gunnison & Meyer, 1929).

Para determinar o poder toxigênico de cada cepa, utilizamos um meio de cultura apropriado para produção de toxina proposto por Wadsworth (1947).

Foram preparados cinco litros de meio de cultura, segundo a fórmula original com pequenas alterações ditadas pela nossa experiência em trabalhos dessa natureza. Ficou assim constituído o preparo do meio:

Carne de vitela	5000 g
Peptona (Oxóide)	50 g
Cloreto de sódio	25 g
Água	5000 g
Glicose 50%	200 ml



a) A carne deve ser desembaraçada de gorduras e aponevroses e moida a seguir.

b) Adicionar um volume de água correspondente ao peso da carne.

c) Deixar em maceração uma noite na geladeira, entre 4°C a 6°C.

d) Retirar da geladeira, levar ao fogo e ferver por cinco minutos.

e) Decantar e filtrar em algodão de vidro; espremer a carne residual em pano, filtrar o suco em algodão de vidro, juntar ao filtrado e reacertar com a mesma água, o volume para 5000 ml.

f) Dissolver o sal e a peptona em 500 ml de caldo e adicionar ao volume total do meio; misturar e acertar o pH a 8,4.

g) Aquecer em vapor fluente por cinco minutos, deixar esfriar e reacertar o volume.

h) Filtrar em papel xarope.

i) Acertar o pH de 7, 6 a 7, 8.

j) Distribuir em balões de fundo chato de 500 ml, contendo 450 ml de meio e cobrir com uma camada de mais ou menos um centímetro de espessura de "Vaspar" (vaselina e parafina), com um ponto de fusão ao redor de 30°C.

k) Proceder à esterilização fracionada a 100°C, durante meia hora, por tres dias consecutivos.

l) Após a última esterilização, retirar os frascos da autoclave e resfriar bruscamente em água fria até a temperatura de aproximadamente 45°C.

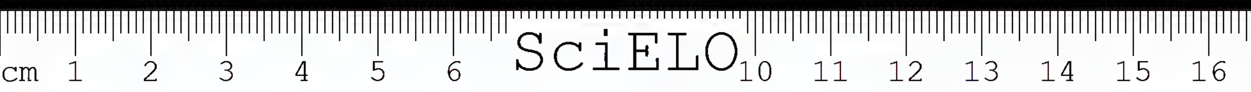
3.1.3 — *Preparo do inoculum*

Prévot & Brygoo (1953) verificaram não haver necessidade de aquecimento prévio do *inoculum*. Seguindo esta orientação, cada cepa foi semeada em 20 ml de meio Tarozzi; após crescimento de 24 horas e conteudo de cada tubo era utilizado como *inoculum* para cada balão do meio. No momento da semeadura, era também adicionada esterilmente 18 ml da solução de glicose e os balões eram incubados a 37°C, durante um período de dez dias. Retirados da estufa, colhiam-se amostras de cada balão e faziam-se as provas de pureza.

3.1.4 — *Titulação da toxina*

Inicialmente fizemos ensaios preliminares aproximados dos títulos das toxinas botulínicas em DMM em camundongos, segundo Nigg *et alii* (1942) para em seguida procedermos, conforme a recomendação da OMS (1963), a precisar os títulos tóxicos pela determinação do LD 50. Para a toxina botulínica, esta é a menor quantidade de toxina que, quando inoculada intraperitonialmente em camundongo de 18 a 20 gramas, causa a morte de cerca de 50% dos animais em 96 horas.

As amostras para a titulagem eram colhidas de cada balão separadamente e centrifugadas a 2.000 r.p.m., durante meia hora, em centrífuga refrigerada a 0°C.



Littauer (1951) conseguiu, com certa precisão, a estabilidade da toxina botulínica tipo A trabalhando à baixa temperatura e empregando, para a sua diluição, uma solução tampão de gelatina fosfatada dipotássica em pH 6,6, conforme preconizado por Stevenson *et alii* (1947). Supõe-se que a adição da gelatina dá à toxina estabilidade provavelmente similar àquela conferida por uma solução concentrada de proteína hidrolizada aminóide (Sommer & Sommer, 1928).

Em seguida, o decantado era diluído em solução de gelatina fosfatada, fazendo-se duas diluições para cada amostra: uma de 1:10.000, correspondente ao título de 20.000 DMM/ camundongo; e, outra, de 1:60.000, correspondente ao título de 120.000 DMM/ camundongo.

De cada diluição inoculamos, individualmente, 0,5 ml em lotes de 4 camundongos, com o peso de 18 a 20 gramas. A observação da morte dos camundongos era feita e anotada a partir de 24 horas até o máximo de observação, que foi de 96 horas, conforme preconizado por Nigg *et alii* (1947). Os resultados encontram-se na Tabela I.

De cada balão semeado foi feito um repique em Tarozzi e repetimos mais uma vez todo o processo, desde a preparação do *inoculum* até a titulação. Os resultados desta segunda prova encontram-se na Tabela II.

3.1.5 — *Toxinotipia*

Não há neutralização entre as toxinas de tipo A e as de tipo B, como alguns autores acreditaram existir (Legroux & Jeramec, 1953). Prévot & Brygoo (1952) demonstraram que essas duas toxinas não apresentavam, na realidade, semelhança antigênica, como ocorre com outros tipos de toxinas botulínicas.

Utilizamos o método preconizado pelo Instituto Pasteur, que permite fazer rapidamente o diagnóstico do tipo (Prévot, 1955).

Tomamos as toxinas a determinar o tipo (as oriundas das raças n.ºs 388-I.B. e 389-I.B. previamente dosadas) e fizemos uma diluição contendo 10 DMM em 0,2 ml. Essa dose era misturada a 0,2 ml. de soro padrão autobotulínico tipo A, contendo 1/10 U.A. de soro padronizado proveniente do "Serum of the Medical Research Council, London". O volume era completado a 0,5 ml, com solução tamponada de gelatina fosfatada. As misturas eram preparadas em quantidade para 5 camundongos e deixadas em contato à temperatura ambiente por uma hora. Em seguida eram inoculados 0,5 ml em cada um de 4 camundongos. Como controle eram utilizados dois camundongos inoculados por via intraperitonial com 10 DMM contidas em um volume de 0,5 ml. Havendo sobrevivência dos camundongos inoculados com misturas de soro e toxina dos controles, o tipo está determinado, conforme mostra a Tabela III.

3.1.6 — *Conservação das cepas*

As amostras de *Clostridium botulinum* tipo A usadas para produção de toxina devem ser conservadas à baixa temperatura e em meios especiais de



manutenção, pois facilmente perdem seu poder toxigênico (Stevenson *et alii,* 1947).

Após as provas de pureza e toxinotipia, as amostras selecionadas foram transferidas para o meio de manutenção. Utilizamos o meio recomendado por Wadsworth (1947) para esse fim, cuja composição é a seguinte:

Infusão de carne concentrada	
(carne 900 g — água 1000 ml)	500 g
Ágar	5 g
Cloreto de Sódio	5 g
Peptona (Oxoide)	10 g
Água	500 g
Glicose	10 g/kg

Dissolver o ágar na água pela autoclavação, a peptona e o sal na infusão. Misturar. Completar o peso total. Ajustar o pH para 7, 8. Filtrar por aspiração, quando ainda quente, através de algodão de vidro. Pesar o filtrado obtido e adicionar a glicose. Distribuir conforme especificado em tubos de 16 por 133 mm e autoclavar trinta minutos a vapor fluente.

Os tubos assim preparados, após resfriados eram colocados na estufa a 37°C. onde permaneciam durante cinco dias, sendo então transferidos para a geladeira e mantidos à temperatura de 4°C a 6°C.

Stevenson *et alii* (1947) loc. cit. observaram que as culturas quando mantidas a 4°C, preservam sua toxigênese e a conservavam durante cerca de tres meses. Findo esse prazo, precisam ser repicadas para manter ativo seu poder toxigênico.

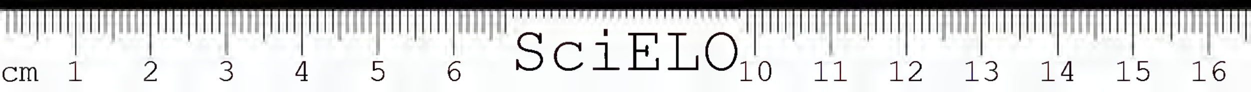
As cepas por nós selecionadas e conservadas como acima descrito eram, quando necessário, repicadas para o meio de Tarozzi e, após 24 horas de crescimento, utilizadas como inóculo para os meios de produção de toxina.

3.2 — *Determinação do tempo necessário para a toxigênese máxima nas nossas condições de trabalho.*

Procuramos inicialmente verificar qual era o tempo necessário para se obter a toxigênese máxima para uma das cepas selecionadas (388-I.B.), utilizando sempre o mesmo meio de cultura.

Para isso usamos tres balões, contendo 1000 ml de meio de cultura. Usamos a técnica já descrita na secção 3.1.2 "Obtenção da toxina botulínica tipo A". Os meios eram semeados usando-se um tubo de inóculo para cada balão. Os balões eram incubados a 37°C.

Passamos a colher amostras dos meios a partir do terceiro dia, com intervalos de tres dias, até o vigésimo primeiro dia. Os balões era cuidadosamente agitados antes da colheita da amostra para homogenizar a distribuição da toxina no meio. Em seguida, de cada um era retirada uma amostra de 10 ml e centrifugada a 4.°C a 2000 r.p.m. durante trinta minutos. No sobre-



nadante era titulada a toxina. Os resultados estão consubstanciados nas Tabelas IV a .X

3.3 — *Influencia da variação da concentração dos componentes do meio de cultura na toxigênese*

Procuramos verificar a influencia que poderia ocorrer na toxigênese modificando-se a concentração dos componentes do meio de cultura já descrito na secção 3.1.2.

Tentamos uma verificação nesse sentido variando a quantidade dos componentes do meio, isto é, carne, peptona e glicose, com exceção do cloreto de sódio, cuja concentração era mantida a mesma. Tomamos tres balões: o número (1), contendo cinqüenta por cento da quantidade dos componentes do meio básico; o número (2), as quantidades normais dos componentes do meio básico e, o número (3), o dobro das quantidades do balão número (2).

Empregamos a mesma técnica e os mesmos ingredientes no preparo do meio de cultura para cada balão.

Nos balões (1) e (2), o volume do meio era de 2500 ml e, no balão (3), cujos componentes entravam em dobro, o volume foi dividido em duas porções, cada qual com 1250 ml.

Cada qual dos balões contendo o meio de cultura foi semeado utilizando-se como inóculo 20 ml de cultura de 24 horas em meio de Tarozzi, com a cepa *C. botulinum* tipo A n.º 388-I.B. e incubado a 37°C durante 6 dias. O balão n.º 3, após a retirada de amostra para titulação, era em seguida adicionado de igual volume também de meio concentrado, totalizando assim um volume de 2500 ml e mantido por mais 6 dias de incubação quando era então retirada nova amostra para titulação.

Os balões contendo os meios eram retirados da estufa, colhendo-se em seguida as amostras para as provas de pureza e para titulação da toxina. Cada amostra utilizada para a dosagem era centrifugada e, o sobrenadante, diluído em solução de gelatina fosfatada em alíquotas e titulado em camundongos. Realizamos essa observação com tres partidas de meio de cultura preparadas em ocasiões diversas. Os resultados estão inseridos nas Tabelas de n.ºs XI, XII e XIII.

Procuramos ainda verificar o resultado quando utilizado o meio de cultura contendo o dobro dos valores dos componentes, sem dividirmos em duas porções. Observamos os mesmos critérios adotados para as experiências acima.

Após doze dias colhemos amostras da série de tres balões. Os resultados estão inseridos na Tabela XIV.

3.4 — *Verificação da toxigênese botulínica tipo A no meio de Prévot & Brygoo*

Procuramos testar um meio considerado por Prévot & Brygoo (1951) como ótimo para a cultura de clostrídios e, principalmente, para a obtenção de suas toxinas. Este meio é conhecido como meio de V F.



Fórmula e preparo do meio

Água destilada	4000 ml
Carne de vitela	800 g
Fígado de boi	200 g
HCl (p. a.)	40 ml
Pepsina (Oxóide) 1/500	2,5 g
Glicose	60 g

Misturar a carne e o fígado finamente moidos. Adicionar os dois terços do volume total de água aquecida a 45°C. Dividir o terço restante em duas partes: uma para diluição do HCl e, outra, para a pepsina, os quais são adicionados em seguida ao volume total da mistura. Incubar em estufa a 48°C, durante vinte horas, interromper a digestão pelo aquecimento rápido a 60°C por cinco a dez minutos. Deixar esfriar, filtrar através de algodão de vidro e ajustar o pH do filtrado para 7,7 a 7,8 com solução de NaOH a 40%.

Submeter o filtrado a vapor fluente por quinze minutos. Retirar da autoclave, deixar esfriar em meio ambiente e colocar na geladeira durante vinte e quatro horas. Em seguida, filtrar através de papel xarope e reajustar o pH para 7, 6 a 7, 8. Distribuir o filtrado em frascos de Erlenmeyer de 5000 ml, contendo 3000 ml de meio de cultura cada um e cobrir com mais ou menos um cm de altura com "Vaspar". Autoclavar a 110°C por trinta minutos.

Retirar da autoclave e resfriar rapidamente, mergulhando os balões em tanque de água fria, até que o meio fique com a temperatura de aproximadamente 45°C.

Foi preparada uma partida para 4 balões.

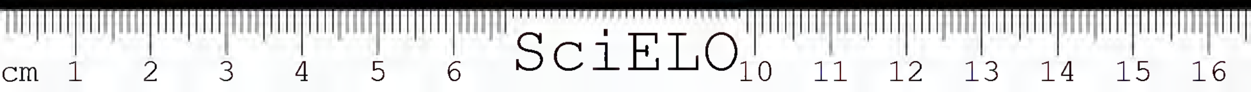
No momento de semear, adicionar 300 ml de solução de glicose a 20% em cada frasco e incubar em estufa a 37°C.

Para cada balão contendo 3000 ml de meio de cultura usamos um inóculo de 20 ml de meio de Tarozzi com cultura de 24 horas, da cepa n.° 388-I.B. e incubamos durante nove dias. Em seguida, de cada balão colhia-se uma amostra, que era centrifugada a 2000 r.p.m., durante trinta minutos. Separado o sobrenadante, era ele diluido em solução de gelatina fosfatada. Os resultados são apresentados na Tabela XV.

Preparamos nova partida de meio de cultura, usando as mesmas técnicas, com a mesma cepa. Distribuimos o produto em sete balões, cada um contendo 3000 ml. Semeamos nas mesmas condições anteriores e observamos o mesmo tempo de incubação. As titulações estão expostas na Tabela XVI.

3.5 — *Influencia do tipo de filtração na perda do título da toxina tipo A*

Na produção de toxina botulínica em volumes necessários à hiperimunização, a cultura após a incubação, era, no início dos nossos trabalhos, filtrado em placas Seitz EKS. Verificamos logo que tal procedimento levava a grandes perdas no título da toxina. Supondo que a placa Seitz adsorvia a toxina passamos a utilizar velas Mandler esterilizantes preconizadas por Nigg *et alii* (1946) montadas em forma de cachos com 4 velas de 12 cm de com-



primento e 2 cm de diâmetro, para a filtração de 15 litros. Posteriormente, visto a dificuldade de obter velas Mandler passamos a usar velas Berkefeld N, de 20 cm de comprimento e 2,5 cm de diâmetro, conjugadas aos pares, para filtrar também 15 litros. Em todos os casos amostras eram colhidas antes da filtração e centrifugadas a 2000 r.p.m. durante 15 minutos para fins de titulação, afim de comparar os títulos antes e depois da filtração. Os resultados estão reunidos na Tabela XVII.

3.6 — *Preparo da anatoxina botulínica tipo A*

Para transformação das toxinas em anatoxinas, escolhemos aquelas que apresentavam títulos razoáveis, isto é, acima de 100.000 DMM/camundongo.

A quantidade de formalina usada por outros investigadores no preparo das anatoxinas variava entre 0,3% a 1% (Polson *et alii* 1946; Hottle *et alii*, 1947; Prévot *et alii*, 1953).

Procuramos verificar nas nossas condições de trabalho qual a quantidade de formalina suficiente para a destoxificação que preservava melhor antigenicidade. Utilizamos quantidades iguais de toxina, às quais foram adicionadas porcentagens variáveis de formol (0,3, 0,4, 0,5, 0,8 e 1%) e incubamos a 37°C por tempo variável e com agitação diária.

Para cada partida de anatoxina procedíamos à verificação da destoxificação das anatoxinas primeiramente realizados em camundongos de 18 a 20 g de peso. Retirávamos amostras das anatoxinas, após tempos variáveis da ação do formol a 37°C e inoculávamos 1 ml por via intraperitonial, em lotes de cinco animais. Caso os animais não apresentassem sintomas de toxemia botulínica no prazo de dez dias, passávamos à prova subsequente, que era feita em cobaias de 250 a 300 g de pêso, em lotes de cinco animais, inoculados com 5 ml do mesmo material por via subcutânea. A prova prévia feita em camundongos indicava de antemão se havia toxicidade residual ou não.

As cobaias eram observadas durante 40 dias, após o que eram sangradas por punção cardíaca. Os soros obtidos de cada lote eram misturados em partes iguais e a mistura titulada em unidades antitóxicas internacionais, conforme descrito na secção 2.4. Os resultados estão expostos na Tabela XVIII.

Passamos a utilizar, como rotina, em nosso laboratório para a hiperimunização dos equinos, as anatoxinas de bom poder antigênico, isto é, aquelas que determinavam nas cobaias títulos acima de 2,0 U.A.

3.6.1 — *Preparo da anatoxina botulínica tipo A precipitada pelo alúmen*

Após provas satisfatórias de inocuidade, antigenicidade e esterilidade, as anatoxinas eram adicionadas de uma solução estéril de sulfato de alumínio e potássio a 10% com agitação constante, resultando numa concentração final de 1,25% de alúmen. Após essa adição o pH baixa de 5,5 a 5,8 para 3,8 a 4,0. Para determinar a precipitação ótima era necessário elevar o pH para 5,0, com uma solução de hidróxido de sódio a 40% e deixar sedimentar durante 24 horas. O pricipitado assim obtido contem toda a substância antigênica. Após a sedimentação era desprezado o sobrenadante e o precipitado ressus-



penso ao nível primitivo com solução salina e agitado; em seguida, deixa-se novamente repousar por vinte e quatro horas, quando é novamente retirado por sifonagem o sobrenadante; essa operação é repetida tres a quatro vezes até obter-se um sobrenadante límpido.

3.6.2 — *Prova de antigenicidade da anatoxina precipitada pelo alúmen*

Baseamo-nos na observação de Rice *et alii* (1947) que consiste na inoculação de 1 ml de anatoxina precipitada pelo alúmen a um lote de cinco cobaias de 250 a 300 g, por via subcutânea. Após quarenta dias, os animais são sangrados por punção cardíaca em 5 a 10 ml; os plasmas são misturados em partes iguais e a mistura dosada em camundongos de 18 a 20 g, em número de quatro para cada título (1 U.A., 2 U.A., 4 U.A., 8 U.A., 16 U.A.).

Os títulos encontrados variaram entre 1 U.A. a 16 U.A. Considerávamos como boa a resposta antigênica quando encontrávamos títulos acima de duas unidades. Após quarenta e oito horas, as cobaias sangradas eram inoculadas com 100.000 DMM de toxina botulínica tipo A com o intuito de ratificar o resultado da prova anterior.

Selecionadas as anatoxinas precipitadas pelo alúmen, isto é, aquelas que apresentavam maior antigenicidade, passamos a utilizá-las na hiperimunização de equinos para obtenção de antitoxina botulínica.

3.7 — *Hiperimunização de cavalos para obtenção da antitoxina botulínica tipo A*

Iniciamos com um esquema de hiperimunização preconizado por Weinberg & Goy (1925), empregando anatoxina de antigenicidade comprovada. Começamos aplicando em 4 cavalos uma dose vacinante de 10 ml. Após 15 dias pusemos em prática o esquema de hiperimunização, com inoculações subcutâneas, principiando com a dose de 30 ml para cada animal.

De 15 em 15 dias continuamos aplicando as seguintes doses individuais: 60 ml, 110 ml, 200 ml, 300 ml e 500 ml.

Sete dias após a última inoculação, fizemos a sangria exploradora na veia jugular, para aferição do grau de resposta. A titulação do plasma de cada cavalo foi feita separadamente pelo teste de neutralização, cuja técnica, está descrita no "Boletim de L'Organization Mondiale de la Santé (1963)".

Visto que esse esquema de hiperimunização não proporcionou resultados satisfatórios — os plasmas dosaram entre 10-40 U.A., outros esquemas foram tentados.

Dentre os esquemas de hiperimunização por nós ensaiados o que melhores resultados nos proporcionou foi aquele decalcado de nossa experiencia no Instituto Butantan, para a hiperimunização em difteria com algumas modificações que não compete discutir aqui.

Nesse sistema as inoculações de antígeno eram administradas em pequenas quantidades diariamente durante as tres primeiras semanas; na quarta semana as inoculações eram administradas em dias alternados e, na quinta e

sexta semanas, eram feitas apenas duas inoculações, de acordo com o seguinte protocolo:

Início de imunização

1.ª semana

1.º dia	5 ml	Anatoxina	pp.	alúmen
2.º dia	5 ml	”	”	”
3.º dia	5 ml	”	”	”
4.º dia	10 ml	”	”	”
5.º dia	10 ml	”	”	”
6.º dia	10 ml	”	”	”

2.ª semana

1.º dia	20 ml	Anatoxina	pp.	alúmen
2.º dia	20 ml	”	”	”
3.º dia	20 ml	”	”	”
4.º dia	40 ml	”	”	”
5.º dia	40 ml	”	”	”
6.º dia	40 ml	”	”	”

3.ª semana

1.º dia	60 ml	Anatoxina	pp.	alúmen
2.º dia	60 ml	”	”	”
3.º dia	60 ml	”	”	”
4.º dia	80 ml	”	”	”
5.º dia	80 ml	”	”	”
6.º dia	80 ml	”	”	”

4.ª semana

1.º dia	100 ml	Anatoxina	pp.	alúmen
2.º dia	100 ml	”	”	”
3.º dia	100 ml	”	”	”
6.º dia	150 ml	”	”	”

5.º semana

2.º dia	150 ml	Anatoxina	pp.	alúmen
5.º dia	150 ml	”	”	”

6.ª semana

2.º dia	200 ml	Anatoxina	pp.	alúmen
5.º dia	200 ml	”	”	”

Ao fim da primeira imunização cada cavalo havia recebido um total de 1.795 ml de antígeno; todos suportaram bem esse esquema de hiperimunização e não apresentaram reações de maior importancia.



Sete dias após a última dose de antígeno era feita a sangria exploradora; se apresentassem título suficiente de anticorpos os animais eram sangrados (5% do seu pêso) tres vezes, com intervalo de dois dias entre cada sangria. Em seguida os animais entravam em período de repouso por um espaço de trinta dias. Findo esse tempo eram submetidos à reimunização durante um período de quatro semanas, obedecendo ao seguinte esquema:

1.ª semana

3.º dia	50 ml	Anatoxina	pp.	alúmen
6.º dia	50 ml	"	"	"

2.ª semana

3.º dia	100 ml	Anatoxina	pp.	alúmen
6.º dia	100 ml	"	"	"

3.ª semana

3.º dia	150 ml	Anatoxina	pp.	alúmen
6.º dia	150 ml	"	"	"

4.ª semana

3.º dia	200 ml	Anatoxina	pp.	alúmen
6.º dia	200 ml	"	"	"

Cada animal recebia um total de 1.000 ml de antígeno.

Repetia-se a imunização após cada período de sangria e repouso.

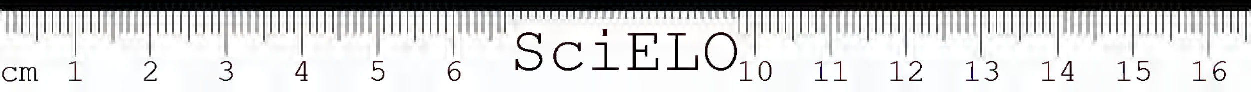
Todos os cavalos eram sangrados em 5% do seu peso. O sangue era recebido sobre uma solução de 17% de citrato de sódio, na proporção de 10% dessa solução, em relação ao volume de sangue a ser colhido. Em seguida, era conservado na geladeira até que houvesse separação do plasma.

O plasma sobrenadante era então decantado, fenolado a 0,4% e, em seguida, colocado e conservado em geladeira, aguardando maiores volumes para serem ajuntados antes da purificação e concentração.

3.8 — *Determinação da potencia da antitoxina botulínica tipo A Sôro padrão*

Para titulação de nossas antitoxinas utilizamos um soro padrão enviado pela "W.H.O." — "International Laboratory for Biological Standards by Statens Serum Institute", de Copenhage, acondicionado em ampolas sob a forma de pó seco (liofilizado) contendo 68,0 mg, equivalente a 500 U.A.

Dissolvendo-se o conteudo da ampola em 10 ml, constituídos por uma parte de solução salina isotônica esteril misturada com duas partes de glicerol neutro e estéril, cada mililitro desse soluto contém 50 unidades internacionais de soro padrão antibotulínico tipo A.



Toxina (Determinação da DL50)

Tomamos 150 ml de uma toxina botulínica tipo A por nós preparada e misturamos a igual quantidade de glicerol neutro, estéril. A mistura era mantida em geladeira a 4ºC. O resultado da determinação do título tóxico em DL50 para camundongos encontra-se na Tabela XIX, mostrando conter cerca de 87.900 DL50 por ml.

A toxina foi, em seguida, diluída a 1:8, de modo a conter aproximadamente 1.000 DMM em 0,1 ml afim de determinar o seu limite-morte ou teste-dose.

Determinação do limite-morte

Da mistura da toxina e soro padrão, foram preparadas nove alíquotas. Tomamos quantidades fixas de soro padrão, isto é, 0,5 U.A., e o misturamos com quantidades variadas da toxina utilizada como padrão e diluída a 1:8. O volume final era completado para 2,5 ml com solução de gelatina fosfatada e 0,5 ml de cada mistura inoculada por via intraperitonial em cada um de quatro camundongos de 18 a 20 g de peso. Os resultados estão expostos na Tabela XX.

Doseamento das misturas de plasma e do sôro final

Os plasmas obtidos pela hiperimunização de equinos eram dosados em U.A., segundo o método da OMS, e reunidos em volume suficiente para as operações de purificação e concentração.

Um protocolo exemplificativo encontra-se na Tabela XXI.

O plasma foi diluído 1:180 e desta diluição tomamos volumes correspondentes aos títulos propostos: 0,64 ml, 0,56 ml, 0,50, ml e 0,45 ml. Cada um desses volumes foi misturado com 5 doses testes da toxina contida em 0,7 ml e o volume completado para 2,5 ml com solução de gelatina fosfatada. As soluções assim obtidas foram incubadas à temperatura ambiente por uma hora. Em seguida era inoculado, por via intraperitonial, 0,5 ml de cada mistura em camundongos pesando de 18 a 20 g. Para cada título proposto, eram inoculados quatro animais, havendo sempre 0,5 ml de excedente. Os animais permaneciam em observação por 96 horas.

Todas as misturas de plasmas foram concentradas e purificadas segundo o método de Pope, adaptado e modificado por Furlanetto & Santos (1961). O doseamento do plasma exemplificado na Tabela XXI após a purificação e concentração descrita, encontra-se na Tabela XXII.

De acordo com os requisitos mínimos da Organização Mundial de Saúde, o soro antibotulínico tipo A por nós preparado foi diluído para conter 500 U.A./ml. O protocolo final da titulação desse soro após a conveniente diluição, encontra-se na Tabela XXIII.



RESULTADOS

Neste capítulo estão insertas as tabelas referentes aos resultados obtidos em nossas experimentações, comentadas a seguir.

Limitamo-nos, pois, à apresentação das tabelas com explicações sucintas das mesmas.

TABELA I

Resultados das titulações da toxina obtida das diversas amostras de **C. botulinum** *tipo A. Primeira passagem em meio de cultura.*

Cepas nº	Títulos testados	Tempo de observação em horas			
		24	48	72	96
381-I.B.	20.000 120.000	0/4 0/4	0/4 0/4	0/4 0/4	1/4 0/4
387-I.B.	20.000 120.000	0/4 0/4	0/4 0/4	0/4 0/4	0/4 0/4
388-I.B.	20.000 120.000	2/4 0/4	2/4 0/4	3/4 1/4	4/4 2/4
389-I.B.	20.000 120.000	0/4 0/4	0/4 0/4	2/4 0/4	3/4 0/4
391-I.B.	20.000 120.000	0/4 0/4	0/4 0/4	0/4 0/4	0/4 0/4
392-I.B.	20.000 120.000	0/4 0/4	0/4 0/4	0/4 0/4	0/4 0/4
394-I.B.	20.000 120.000	0/4 0/4	0/4 0/4	0/4 0/4	0/4 0/4
395-I.B.	20.000 120.000	0/4 0/4	0/4 0/4	0/4 0/4	0/4 0/4
62-I.P.	20.000 120.000	0/4 0/4	2/4 0/4	3/4 0/4	4/4 0/4
193-I.P.	20.000 120.000	0/4 0/4	0/4 0/4	2/4 0/4	3/4 0/4

Procedência: I.B. — Instituto Butantan; I.P. — Instituto Pasteur

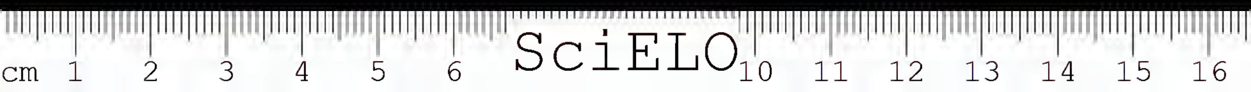


TABELA II

Resultados das titulações obtidas pelo cultivo de diversas amostras de **C. botulinum** *tipo A. Segunda passagem em meio de cultura*

Cepas nº	Títulos testados	Tempo de observação em horas			
		24	48	72	96
381-I.B.	20.000	0/4	2/4	2/4	4/4
	120.000	0/4	0/4	1/4	2/4
387-I.B.	20.000	0/4	0/4	0/4	0/4
	120.000	0/4	0/4	0/4	0/4
388-I.B.	20.000	4/4	4/4	4/4	4/4
	120.000	4/4	4/4	4/4	4/4
389-I.B.	20.000	4/4	4/4	4/4	4/4
	120.000	4/4	4/4	4/4	4/4
391-I.B.	20.000	0/4	0/4	0/4	0/4
	120.000	0/4	0/4	0/4	0/4
392-I.B.	20.000	4/4	4/4	4/4	4/4
	120.000	4/4	4/4	4/4	4/4
394-I.B.	20.000	0/4	0/4	0/4	0/4
	120.000	0/4	0/4	0/4	0/4
395-I.B.	20.000	0/4	2/4	2/4	4/4
	120.000	0/4	0/4	3/4	3/4
62-I.P.	20.000	4/4	4/4	4/4	4/4
	120.000	4/4	4/4	4/4	4/4
193-I.P.	20.000	2/4	3/4	4/4	4/4
	120.000	1/4	2/4	2/4	4/4

Procedência:
I.B. — Instituto Butantan
I.P. — Instituto Pasteur

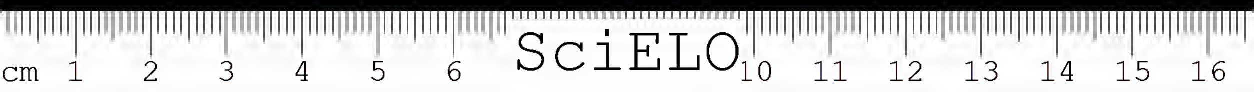


TABELA III

Determinação do tipo das toxinas oriundas das cepas nº 388-I.B e 389-I.B.

	Toxina da cepa nº 388-I.B.	Toxina da cepa nº 389-I.B.	Sôro padrão** Volume	Solução de gelatina fosfatada Volume		Volume inoculado ***	Observação				
							Animais nº	Tempo em horas			
								24	48	72	96
	1 ml*	—	1 ml	0,5 ml	Incubação de uma hora em temperatura ambiente	0,5 ml	1	ss	ss	ss	ss
							2	ss	ss	ss	ss
							3	ss	ss	ss	ss
							4	ss	ss	ss	ss
	—	1 ml *	1 ml	0,5 ml		0,5 ml	5	ss	ss	ss	ss
							6	ss	ss	ss	ss
							7	ss	ss	ss	ss
							8	ss	ss	ss	ss
Controles	1 ml	—	—	1,5 ml		0,5 ml	9	*** †			
							10	†			
	—	1 ml	—	1,5 ml		0,5 ml	11	†			
							12	†			

* 1 ml = 50 DMM

** soro padrão tipo A diluído contendo 1 ml = 0,5 U.A. (Serum of the Medical Research Council-London)

*** dose individual por via intraperitonial em camundongos de 18 a 22 g

**** † = morte do animal

TABELA IV

*Determinação do período de toxigênese máxima para a produção de toxina botulínica tipo A. (Cepa nº 388-I.B., amostras dos balões 1, 2 e 3, retiradas após 3 dias de semeadura)**

Balão nº	Diluição da Toxina 1:	Título DMM	Tempo de observação em horas			
			24	48	72	96
1	100.000	200.000	4/4			
	150.000	300.000	2/4	3/4	4/4	
	200.000	400.000	0/4	1/4	3/4	4/4
	250.000	500.000	0/4	1/4	1/4	1/4
	300.000	600.000	0/4	0/4	0/4	0/4
2	100.000	200.000	3/4	4/4		
	150.000	300.000	3/4	4/4		
	200.000	400.000	0/4	2/4	3/4	3/4
	250.000	500.000	0/4	0/4	1/4	1/4
	300.000	600.000	0/4	0/4	0/4	1/4
3	100.000	200.000	4/4			
	150.000	300.000	3/4	4/4		
	200.000	400.000	2/4	2/4	3/4	4/4
	250.000	500.000	0/4	0/4	1/4	1/4
	300.000	600.000	0/4	0/4	0/4	0/4

* Inoculação de 0,5 ml por via intraperitonial em camundongos

TABELA V

*Determinação do período de toxigênese máxima para a produção de toxina botulínica tipo A. (Cepa nº 388-I.B., amostras dos balões 1, 2 e 3 retiradas após seis dias da semeadura)**

Balão nº	Diluição da Toxina 1:	Título DMM	Tempo de observação em horas			
			24	48	72	96
1	300.000	600.000	3/4	4/4		
	350.000	700.000	2/4	3/4	4/4	
	400.000	800.000	0/4	0/4	2/4	3/4
	450.000	900.000	0/4	0/4	1/4	1/4
	500.000	1.000.000	0/4	0/4	0/4	0/4
2	300.000	600.000	0/4	3/4	4/4	
	350.000	700.000	0/4	2/4	4/4	
	400.000	800.000	0/4	0/4	3/4	4/4
	450.000	900.000	0/4	0/4	1/4	1/4
	500.000	1.000.000	0/4	0/4	0/4	0/4
3	300.000	600.000	1/4	4/4		
	350.000	700.000	0/4	3/4	4/4	
	400.000	800.000	0/4	2/4	2/4	2/4
	450.000	900.000	0/4	0/4	0/4	0/4
	500.000	1.000.000	0/4	0/4	0/4	0/4

* Inoculação de 0,5 ml por via intraperitonial em camundongos

TABELA VI

*Determinação do período de toxigênese máxima para a produção de toxina botulínica tipo A. (Cepa nº 388-I.B., amostras dos balões 1, 2 e 3 retiradas após nove dias de semeadura)**

Balão nº	Diluição da Toxina 1:	Título DMM	Tempo de observação em horas			
			24	48	72	96
1	100.000	200.000	3/4	4/4		
	150.000	300.000	2/4	4/4		
	200.000	400.000	3/4	3/4	4/4	
	400.000	800.000	0/4	0/4	2/4	2/4
	500.000	1.000.000	0/4	0/4	0/4	0/4
2	100.000	200.000	4/4			
	150.000	300.000	3/4	4/4		
	200.000	400.000	2/4	4/4		
	400.000	800.000	0/4	2/4	3/4	3/4
	500.000	1.000.000	0/4	0/4	0/4	0/4
3	100.000	200.000	4/4			
	150.000	300.000	2/4	4/4		
	200.000	400.000	2/4	3/4	4/4	
	400.000	800.000	1/4	3/4	3/4	3/4
	500.000	1.000.000	0/4	0/4	0/4	0/4

* Inoculação de 0,5 ml por via intraperitonial em camundongos

TABELA VII

*Determinação do período de toxigênese máxima para a produção de toxina botulínica tipo A. (Cepa nº 388-I.B., amostras dos balões 1, 2 e 3 retiradas após doze dias de semeadura)**

Balão nº	Diluição da Toxina 1:	Título DMM	Tempo de observação em horas			
			24	48	72	96
1	200.000	400.000	3/4	4/4		
	300.000	600.000	3/4	4/4		
	400.000	800.000	1/4	1/4	3/4	3/4
	500.000	1.000.000	0/4	0/4	1/4	1/4
2	200.000	400.000	4/4			
	300.000	600.000	2/4	3/4	4/4	
	400.000	800.000	0/4	1/4	2/4	2/4
	500.000	1.000.000	0/4	0/4	0/4	0/4
3	200.000	400.000	2/4	4/4		
	300.000	600.000	2/4	3/4	4/4	
	400.000	800.000	1/4	2/4	3/4	4/4
	500.000	1.000.000	0/4	0/4	1/4	1/4

* Inoculação de 0,5 ml por via intraperitonial em camundongos

TABELA VIII

*Determinação do período de toxigênese máxima para a produção de toxina botulínica tipo A. (Cepa nº 388-I.B.; amostras dos balões 1, 2 e 3 retiradas após quinze dias de semeadura)**

Balão nº	Diluição da Toxina 1:	Título DMM	Tempo de observação em horas			
			24	48	72	96
1	200.000	400.000	4/4			
	300.000	600.000	2/4	4/4		
	400.000	800.000	1/4	2/4	2/4	3/4
	500.000	1.000.000	0/4	0/4	0/4	0/4
2	200.000	400.000	3/4	4/4		
	300.000	600.000	3/4	4/4		
	400.000	800.000	2/4	3/4	3/4	3/4
	500.000	1.000.000	1/4	1/4	1/4	1/4
3	200.000	400.000	1/4	4/4		
	300.000	600.000	3/4	4/4		
	400.000	800.000	0/4	0/4	2/4	2/4
	500.000	1.000.000	0/4	0/4	1/4	1/4

* Inoculação de 0,5 ml por via intraperitonial em camundongos

TABELA IX

*Determinação do período de toxigênese máxima para a produção de toxina botulínica tipo A. (Cepa nº 388-I.B., amostras dos balões 1, 2 e 3 retiradas após dezoito dias de semeadura)**

Balão nº	Diluição da Toxina 1:	Título DMM	Tempo de observação em horas			
			24	48	72	96
1	100.000	200.000	2/4	4/4		
	200.000	400.000	1/4	3/4	4/4	
	300.000	600.000	0/4	2/4	2/4	3/4
	400.000	800.000	0/4	0/4	0/4	1/4
2	100.000	200.000	4/4			
	200.000	400.000	2/4	4/4		
	300.000	600.000	0/4	3/4	3/4	3/4
	400.000	800.000	0/4	1/4	1/4	1/4
3	100.000	200.000	3/4	4/4		
	200.000	400.000	1/4	3/4	3/4	3/4
	300.000	600.000	0/4	0/4	2/4	2/4
	400.000	800.000	0/4	0/4	0/4	0/4

* Inoculação de 0,5 ml por via intraperitonial em camundongos



TABELA X

Determinação do período de toxigênese máxima para a produção de toxina botulínica tipo A. (Cepa nº 388-I.B., amostras dos balões 1, 2 e 3 retiradas após vinte e um dias de semeadura) *

Balão nº	Diluição da Toxina 1:	Título DMM	Tempo de observação em horas			
			24	48	72	96
1	100.000	200.000	2/4	4/4		
	200.000	400.000	0/4	1/4	4/4	
	300.000	600.000	0/4	0/4	2/4	2/4
	400.000	800.000	0/4	0/4	0/4	0/4
2	100.000	200.000	3/4	4/4		
	200.000	400.000	1/4	1/4	3/4	3/4
	300.000	600.000	0/4	0/4	1/4	1/4
	400.000	800.000	0/4	0/4	0/4	0/4
3	100.000	200.000	2/4	4/4		
	200.000	400.000	0/4	2/4	2/4	3/4
	300.000	600.000	0/4	0/4	0/4	0/4
	400.000	800.000	0/4	0/4	0/4	0/4

* Inoculação de 0,5 ml por via intraperitonial em camundongos

TABELA XI

Dosagem da toxina botulínica tipo A. do primeiro ensaio onde houve variação da concentração dos componentes do meio de cultura após seis dias de incubação. (Cepa nº 388-I.B.) *

Balão nº	Diluição da Toxina 1:	Título DMM	Tempo de observação em horas			
			24	48	72	96
1	100.000	200.000	0/4	0/4	0/4	0/4
	200.000	400.000	0/4	0/4	0/4	0/4
	400.000	800.000	0/4	0/4	0/4	0/4
	800.000	1.600.000	0/4	0/4	0/4	0/4
2	100.000	200.000	0/4	1/4	2/4	4/4
	200.000	400.000	0/4	0/4	1/4	2/4
	400.000	800.000	0/4	0/4	0/4	0/4
	800.000	1.600.000	0/4	0/4	0/4	0/4
3	100.000	200.000	1/4	3/4	4/4	
	200.000	400.000	0/4	0/4	2/4	3/4
	400.000	800.000	0/4	0/4	1/4	1/4
	800.000	1.600.000	0/4	0/4	0/4	0/4
3A	100.000	200.000	2/4	4/4		
	200.000	400.000	2/4	2/4	3/4	4/4
	400.000	800.000	0/4	1/4	1/4	3/4
	800.000	1.600.000	0/4	0/4	0/4	1/4

* Inoculação de 0,5 ml por via intraperitonial em camundongos

Balão nº 1 — Volume 2.500 ml. Meio de cultura isotonizado mas com 50% dos valores de seus componentes. Dosada após 6 dias de incubação.

Balão nº 2 — Volume 2.500 ml. Meio de cultura conforme a fórmula original. Dosada após 6 dias de incubação.

Balão nº 3 — Volume original 1.250 ml. Meio de cultura isotonizado mas com 200% dos valores de seus componentes. Dosada após 6 dias de incubação.

Balão nº 3 A — O mesmo que o balão nº 3, acrescentado, 6 dias após, da quantidade restante do mesmo meio, titulado após outros 6 dias de incubação.

TABELA XII

*Dosagem da toxina botulínica tipo A, do segundo ensaio onde houve variação da concentração dos componentes do meio de cultura após seis dias de incubação. (Cepa nº 388-I.B.)**

Balão nº	Diluição da Toxina 1:	Título DMM	Tempo de observação em horas			
			24	48	72	96
1	100.000	200.000	0/4	0/4	0/4	0/4
	200.000	400.000	0/4	0/4	0/4	0/4
	400.000	800.000	0/4	0/4	0/4	0/4
	800.000	1.600.000	0/4	0/4	0/4	0/4
2	100.000	200.000	0/4	0/4	2/4	4/4
	200.000	400.000	0/4	0/4	1/4	2/4
	400.000	800.000	0/4	0/4	0/4	0/4
	800.000	1.600.000	0/4	0/4	0/4	0/4
3	100.000	200.000	0/4	2/4	4/4	
	200.000	400.000	0/4	0/4	3/4	4/4
	400.000	800.000	0/4	0/4	0/4	0/4
	800.000	1.600.000	0/4	0/4	0/4	0/4
3A	100.000	200.000	2/4	3/4	4/4	
	200.000	400.000	0/4	1/4	2/4	4/4
	400.000	800.000	1/4	2/4	2/4	4/4
	800.000	1.600.000	0/4	0/4	0/4	1/4

* Inoculação de 0,5 ml por via intraperitonial em camundongos

Balão nº 1 — Volume 2500 ml. Meio de cultura isotonizado mas com 50% dos valores de seus componentes.

Balão nº 2 — Volume 2.500 ml. Meio de cultura conforme a fórmula original.

Balão nº 3 — Volume original 1.250 ml. Meio de cultura isotonizado mas com 200% dos valores de seus componentes.

Balão nº 3A — O mesmo que o balão nº3, acrescentado, 6 dias após, da quantidade restante do mesmo meio e titulado após outros 6 dias de incubação.

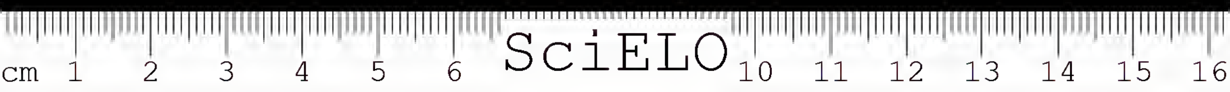


TABELA XIII

*Dosagem da toxina botulínica tipo A, do terceiro ensaio onde houve variação da concentração dos componentes do meio de cultura apó seis dias de incubação. (Cepa nº 388-I.B.)**

Balão nº	Diluição da Toxina 1:	Título DMM	Tempo de observação em horas			
			24	48	72	96
1	100.000	200.000	0/4	0/4	0/4	0/4
	200.000	400.000	0/4	0/4	0/4	0/4
	400.000	800.000	0/4	0/4	0/4	0/4
	800.000	1.600.000	0/4	0/4	0/4	0/4
2	100.000	200.000	0/4	1/4	2/4	4/4
	200.000	400.000	0/4	1/4	1/4	3/4
	400.000	800.000	0/4	0/4	0/4	0/4
	800.000	1.600.000	0/4	0/4	0/4	0/4
3	100.000	200.000	1/4	2/4	3/4	4/4
	200.000	400.000	0/4	0/4	1/4	2/4
	400.000	800.000	0/4	0/4	0/4	1/4
	800.000	1.600.000	0/4	0/4	0/4	0/4
3A	100.000	200.000	1/4	3/4	4/4	
	200.000	400.000	1/4	2/4	3/4	4/4
	400.000	800.000	0/4	1/4	2/4	3/4
	800.000	1.600.000	0/4	0/4	0/4	1/4

* Inoculação de 0,5 ml por via intraperitonial em camundongos

Balão nº 1 — Volume 2.500 ml. Meio de cultura isotonizado mas com 50% dos valores de seus componentes.

Balão nº 2 — Volume 2.500 ml. Meio de cultura conforme a fórmula original.

Balão nº 3 — Volume original 1.250 ml. Meio de cultura isotonizado mas com 200% dos valores de seus componentes.

Balão nº 3A — O mesmo que o balão nº 3, acrescentando, 6 dias após, da quantidade restante do mesmo meio e titulado após outros 6 dias de titulação.

TABELA XIV

*Dosagem da toxina botulínica tipo A, preparada no meio de Wadsworth com o dôbro dos componentes do meio de cultura após doze dias de incubação. (Cepa nº 388-I.B.)**

Balão nº	Diluição da Toxina 1:	Título DMM	Tempo de observação em horas			
			24	48	72	96
1	150.000	300.000	1/4	2/4	4/4	
	200.000	400.000	0/4	1/4	2/4	4/4
	250.000	500.000	0/4	1/4	2/4	3/4
	300.000	600.000	0/4	0/4	0/4	1/4
2	150.000	300.000	0/4	0/4	1/4	3/4
	200.000	400.000	0/4	0/4	1/4	2/4
	250.000	500.000	1/4	1/4	2/4	2/4
	300.000	600.000	0/4	0/4	0/4	0/4
3	150.000	300.000	0/4	3/4	3/4	4/4
	200.000	400.000	0/4	0/4	2/4	3/4
	250.000	500.000	0/4	1/4	1/4	2/4
	300.000	600.000	0/4	0/4	0/4	0/4

* Inoculação de 0,5 ml por via intraperitonial em camundongos
** Cada balão contendo o volume de 2.500 ml de meio

TABELA XV

*Dosagem da toxina botulínica tipo A, preparada no meio de Prévot & Brygoo. Volume 3000 ml em cada balão. Incubação de nove dias a 37°C. (Cepa nº 388-I.B.) **

Balão nº	Diluição da Toxina 1:	Título DMM	Tempo de observação em horas			
			24	48	72	96
1	100.000	200.000	3/4	4/4		
	200.000	400.000	0/4	0/4	1/4	2/4
	400.000	800.000	0/4	0/4	0/4	0/4
	800.000	1.600.000	0/4	0/4	0/4	0/4
2	100.000	200.000	0/4	4/4		
	200.000	400.000	0/4	2/4	2/4	2/4
	400.000	800.000	0/4	0/4	0/4	0/4
	800.000	1.600.000	0/4	0/4	0/4	0/4
3	100.000	200.000	2/4	4/4		
	200.000	400.000	0/4	1/4	1/4	1/4
	400.000	800.000	0/4	1/4	2/4	2/4
	800.000	1.600.000	0/4	0/4	0/4	0/4
4	100.000	200.000	0/4	3/4	4/4	
	200.000	400.000	0/4	0/4	1/4	2/4
	400.000	800.000	0/4	0/4	0/4	0/4
	800.000	1.600.000	0/4	0/4	0/4	0/4

* Inoculação de 0,5 ml por via intraperitonial em camundongos



TABELA XVI

*Dosagem da toxina botulinica tipo A, preparada no meio de Prévot & Brygoo. Volume 3.000 ml em cada balão. Incubação de nove dias a 37°C. (Cepa nº 388-I.B.)**

Balão nº	Diluição da Toxina 1:	Título DMM	Tempo de observação em horas			
			24	48	72	96
1	100.000	200.000	2/4	3/4	4/4	
	200.000	400.000	0/4	0/4	2/4	2/4
	400.000	800.000	0/4	0/4	0/4	0/4
	800.000	1.600.000	0/4	0/4	0/4	0/4
2	100.000	200.000	0/4	2/4	4/4	
	200.000	400.000	0/4	1/4	2/4	3/4
	400.000	800.000	0/4	0/4	1/4	2/4
	800.000	1.600.000	0/4	0/4	0/4	0/4
3	100.000	200.000	0/4	2/4	2/4	3/4
	200.000	400.000	0/4	0/4	1/4	2/4
	400.000	800.000	0/4	0/4	0/4	1/4
	800.000	1.600.000	0/4	0/4	0/4	0/4
4	100.000	200.000	0/4	0/4	2/4	3/4
	200.000	400.000	0/4	0/4	0/4	2/4
	400.000	800.000	0/4	0/4	0/4	0/4
	800.000	1.600.000	0/4	0/4	0/4	0/4
5	100.000	200.000	1/4	2/4	4/4	
	200.000	400.000	1/4	1/4	2/4	2/4
	400.000	800.000	0/4	0/4	0/4	1/4
	800.000	1.600.000	0/4	0/4	0/4	0/4
6	100.000	200.000	2/4	2/4	3/4	4/4
	200.000	400.000	2/4	2/4	3/4	3/4
	400.000	800.000	0/4	0/4	1/4	2/4
	800.000	1.600.000	0/4	0/4	0/4	0/4
7	100.000	200.000	0/4	3/4	4/4	
	200.000	400.000	0/4	1/4	2/4	3/4
	400.000	800.000	0/4	0/4	1/4	1/4
	800.000	1.600.000	0/4	0/4	0/4	0/4

* Inoculação de 0,5 ml por via intraperitonial em camundongos

TABELA XVII

Perda da toxidez da toxina botulinica tipo A após a clarificação e filtração em filtros diferentes. Títulos em DMM camundongos.

Partida nº	Título da Toxina antes da Filtração	Título da toxina após a filtração			
		Filtros Seitz	Vela Mandler	Vela Berkefeld N	Perda em %
1	200.000	40.000			80%
2	100.000	20.000			80%
3	300.000	100.000			66%
					Média: 75,3%
4	200.000		100.000		50%
5	200.000		90.000		55%
6	400.000		300.000		25%
					Média: 43,3%
7	400.000			200.000	50%
8	300.000			225.000	25%
9	200.000			150.000	25%
					Média: 33%



TABELA XVIII

Determinação da porcentagem de formol necessária para a destoxificação em função do tempo de incubação e título antigênico após a inoculação de 5 ml em cobaias para cada % de formol

Número da partida de Toxina	Título da Toxina em DMM	Porcentagem de formol*	Tempo para destoxificação em dias	Título da antitoxina em U.A.**
		0,3	30	0,5
		0,4	30	0,5
17	120.000	0,5	25	1,0
		0,8	15	0,5
		1,0	15	0,2
		0,3	35	3
		0,4	30	3
23	100.000	0,5	25	5
		0,8	20	1
		1,0	15	1
		0,3	35	1
		0,4	35	1
26	200.000	0,5	30	2
		0,8	20	0,1
		1,0	20	0,1
		0,3	30	5
		0,4	30	5
31	100.000	0,5	20	10
		0,8	15	2
		1,0	15	2
		0,3	30	1
		0,4	30	1
35	180.000	0,5	25	5
		0,8	15	0,5
		1,0	15	0,5

* comercial B. Herzog

** Título da mistura do sôro de 5 cobaias imunizadas com toxóide obtido com porcentagens diferentes de formol.

TABELA XIX

*Determinação da DL50 da toxina botulínica tipo A utilizada como padrão**

Título correspondente	Diluição da Toxina 1:	Tempo de observação em horas			
		24	48	72	96
60.000	30.000	3/10	6/10	9/10	10/10
72.000	36.000	5/10	6/10	9/10	9/10
86.400	43.200	2/10	6/10	8/10	8/10
103.680	51.840	1/10	3/10	3/10	5/10
124.416	62.208	0/10	2/10	2/10	2/10
149.299	74.649	0/10	0/10	0/10	0/10

* Inoculação de 0,5 ml por via intraperitonial em camundongos
Resultado. DL50 calculada pelo método de Reed & Muench (1938) = 87.958/ml

TABELA XX

*Determinação do Limite-morte (L+) ou teste dose da toxina botulínica tipo A utilizada como padrão**

Toxina diluída a 1:8 **	Soro padrão diluído a 1:50 (0,1 ml = 0,1 U.A.)	Solução de gelatina fosfatada	Tempo de observação em horas			
			24	48	72	96
0,10 ml	0,5 ml	1,9 ml	0/4	0/4	0/4	0/4
0,20 ml	0,5 ml	1,8 ml	0/4	0/4	0/4	0/4
0,30 ml	0,5 ml	1,7 ml	0/4	0/4	0/4	0/4
0,40 ml	0,5 ml	1,6 ml	0/4	0/4	0/4	0/4
0,50 ml	0,5 ml	1,5 ml	0/4	0/4	0/4	0/4
0,60 ml	0,5 ml	1,4 ml	0/4	0/4	1/4	1/4
0,70 ml	0,5 ml	1,3 ml	0/4	1/4	2/4	3/4
0,80 ml	0,5 ml	1,2 ml	1/4	2/4	4/4	
0,90 ml	0,5 ml	1,1 ml	3/4	4/4		

* Inoculação de 0,5 ml da mistura por via intraperitonial em camundongos

** Volumes para 5 camundongos

Observações: A quantidade de toxina que pràticamente determinou cerca de 50% de morte em 96 horas foi a de 0,14 ml. Tomamos, pois, esse valor como teste dose de nossa toxina.

TABELA XXI

*Resultados dos doseamentos da mistura de plasmas antibotulínicos tipo A**
(Cavalo nº 420)

Plasma: Título correspondente em U.A.	Plasma: Diluição 1:	Plasma: Volume	Toxina para 5 dose-teste (L+) = 0,14 ml	Solução de gelatina fosfatada	Tempo de observação em horas: 24	48	72	96
140	180	0,64 ml	0,70 ml	1,16 ml	0/4	0/4	0/4	0/4
160		0,56 ml	0,70 ml	1,24 ml	0/4	0/4	0/4	0/4
180		0,50 ml	0,70 ml	1,30 ml	0/4	4/4		
200		0,45 ml	0,70 ml	1,35 ml	4/4			
Soro padrão								
1,2	50	0,40 ml	0,70 ml	1,40 ml	1/4	4/4		
1,0		0,50 ml	0,70 ml	1,30 ml	0/4	0/4	1/4	2/4
0,8		0,60 ml	0,70 ml	1,20 ml	0/4	0/4	0/4	0/4

* Inoculação de 0,5 ml por via intraperitonial em camundongos.
A menor quantidade de plasma que preservou da morte pelo menos cinquenta por cento das camundongos inoculados foi a correspondente à diluição de 1:160, por onde se conclui que o título do plasma é de 160 U.A./ml.

TABELA XXII

*Resultado da dosagem do soro antibotulínico tipo A purificado**

Soro: Título correspondente em U.A.	Soro: Diluição 1:	Soro: Volume	Toxina para 5 dose teste (L+) = 0,14 ml	Solução de gelatina fosfatana	Tempo de observação em horas: 24	48	72	96
600	1.200	1,00 ml	0,70 ml	0,80 ml	0/4	0/4	0/4	0/4
800		0,75 ml	0,70 ml	1,05 ml	0/4	0/4	0/4	0/4
1.000		0,60 ml	0,70 ml	1,20 ml	0/4	1/4	1/4	1/4
1.200		0,50 ml	0,70 ml	1,30 ml	0/4	1/4	1/4	1/4
1.400		0,43 ml	0,70 ml	1,37 ml	0/4	0/4	2/4	2/4
1.600		0,37 ml	0,70 ml	1,43 ml	2/4	3/4	4/4	
Soro Padrão								
		0,40 ml	0,70 ml	1,40 ml	4/4			
50	50	0,50 ml	0,70 ml	1,30 ml	0/4	1/4	2/4	2/4
		0,60 ml	0,70 ml	1,20 ml	0/4	0/4	0/4	0/4

* Inoculação de 0,5 ml por via intraperitonial em camundongos.
Pelos resultados acima pode-se atribuir o valor de 1.400 U.A./ml.

TABELA XXIII

*Dosagem do sôro antibotulínico tipo A após sua purificação e conveniente diluição**

Soro			Toxina para 5 dose teste (L+) = 0,14 ml	Solução de gelatina fosfatada	Tempo de observação em horas			
Título ponden-to em U.A.	Diluição 1:	Volume			24	48	72	96
425	425	0,50 ml	0,70 ml	1,30 ml	0/4	0/4	0/4	0/4
450	450	0,50 ml	0,70 ml	1,30 ml	0/4	0/4	0/4	0/4
475	475	0,50 ml	0,70 ml	1,30 ml	0/4	0/4	0/4	0/4
500	500	0,50 ml	0,70 ml	1,30 ml	1/4	1/4	2/4	2/4
525	525	0,50 ml	0,70 ml	1,30 ml	0/4	2/4	4/4	
550	550	0,50 ml	0,70 ml	1,30 ml	2/4	4/4		
Soro Padrão								
		0,40 ml	0,70 ml	1,40 ml	4/4			
50	50	0,50 ml	0,70 ml	1,30 ml	1/4	3/4	3/4	3/4
		0,60 ml	0,70 ml	1,20 ml	0/4	0/4	0/4	0/4

* Inoculação de 0,5 ml por via intraperitonial em camundongos.

A menor diluição de soro que preservou da morte cinquenta por cento dos camundongos foi a de 1:500, conforme mostra a Tabela acima. Êsse soro contém, portanto, 500 U.A./ml. O soro convenientemente diluído é acondicionado em ampôlas de 20 ml cada qual contendo 10.000 U.A.

COMENTÁRIOS E DISCUSSÃO

A ocorrencia do surto de botulismo na cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul (1958) veio mostrar a necessidade de se produzir no Brasil os soros antibotulínicos contra os tipos de intoxicação humana mais frequentes, os tipos A e B, até então importados de países estrangeiros. Neste trabalho, pioneiro no país, nos preocupamos inicialmente com o preparo do soro contra o tipo A, visto o acidente acima descrito ter sido produzido por esse tipo. Muito embora não se tenham ainda descrito intoxicações no Brasil causadas pelo *Clostridium botulinum* tipo B, sendo esta intoxicação frequente em outros países, resolvemos também preparar este último soro a fim de estarmos melhor equipados contra eventuais acidentes. No entanto, neste trabalho somente descrevemos o preparo do primeiro soro, isto é, o anti tipo A, visto que o preparo do segundo soro constituiria uma repetição da metodologia empregada.

Os acidentes botulínicos revestem-se geralmente de aspecto grave e o êxito da terapêutica sorológica (ainda a única medicação indicada) está na aplicação precoce do soro.

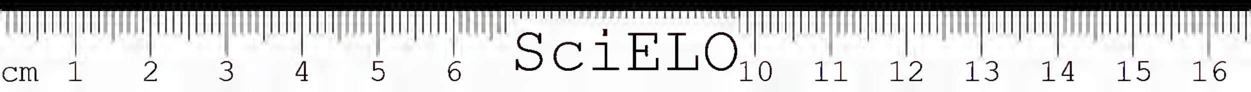
No processo de obtenção do soro antibotulínico em escala industrial realizamos numerosos ensaios para atingirmos o nosso objetivo, pois não havia técnica pré-determinada que nos pudesse servir de orientação.

Preliminarmente procuramos selecionar as cepas mais toxigênicas das existentes na germoteca do Instituto Butantan como podemos observar nas Tabelas I e II.

Através dos títulos das toxinas obtidas na segunda passagem, houve incremento da toxigênese em algumas amostras. Tivemos, portanto, de optar, um tanto arbitrariamente, por uma ou duas cepas mais toxigênicas. Assim sendo, na primeira passagem (Tabela 1), para a raça n.º 388-I.B., a toxina apresentou um título de 20.000 DMM/camundongo já em 24 horas. Situação quase igual notou-se com as raças n.ºs 389-I.B., 62-I.P. e 193-I.P. Optamos, pois, trabalhar inicialmente com a primeira daquelas raças e caso fosse necessário, mais tarde, poderíamos utilizar as demais citadas.

Em seguida, passamos à confirmação do tipo, submetendo duas raças à prova de toxinotipia, através da qual certificamo-nos de que as referidas raças pertencem de fato ao tipo A (Seção 3.1.5).

Quanto ao tempo necessário para a obtenção da toxigênese máxima na primeira titulação, que foi realizada em amostra colhida após tres dias de semeadura, a toxina apresentou o título de 400.000 DMM/camundongo; colhida, porém, após seis dias, o título apresentado foi de 800.000 DMM/camundongo (Tabelas IV e V). Verificamos, em seguida, que o título se mantinha estável do sexto ao décimo quinto dia, quando a cultura era mantida a 37ºC; após este período, ocorria um decréscimo do título tóxico, conforme demonstram as Tabelas V a X.



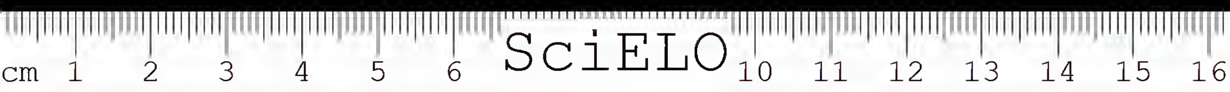
Essas observações foram repetidas por tres vezes com os mesmos resultados em experiências posteriores, que deixamos de apresentar aqui, a fim de evitar repetições desnecessárias. Nossos resultados estão de acôrdo com as observações de Stevenson *et alii* (1947), isto é, de que o aumento do título da toxina é gradativo nos seis primeiros dias, havendo, em seguida, estabilização, para depois ocorrer um decréscimo lento de seu título.

Prévot et Brygoo (1953) consideram a autólise como uma das causas da liberação de toxina. A lise espontânea das bactérias aumentaria a quantidade de toxina livre numa proporção logarítmica, segundo Stevenson *et alii* (1947). Com esse objetivo, os referidos autores preconizavam a destruição dos corpos bacterianos, através de congelamento e descongelamento. Supondo-se que a autólise bacteriana fosse a responsável pela toxigênese não nos parece muito razoável que o título da toxina não aumentasse além do sexto dia de incubação, quando deve haver provavelmente uma autólise maior.

Propusemo-nos, em seguida, a verificar os títulos das toxinas quando obtidas em meio de cultura para o qual variamos a concentração dos componentes do mesmo.

Partindo do meio básico, alteramos a concentração de seus componentes, para mais ou para menos, sempre mantendo o mesmo volume. Com esse procedimento, obtivemos os resultados expostos nas Tabelas XI, XII e XIII. Por aí, pode-se verificar que, com o meio contendo a metade dos componentes (Balão n.º 1) do meio básico, a toxina não chegou a dosar 200.000 DMM/camundongo, ao passo que, com o meio básico normal (Balão n.º 2), o título pode seguramente ser estimado em 400.000 DMM/camundongo; por outro lado, no meio de cultura contendo o dobro ds componentes do meio básico (Balão n.º 3), a toxina obtida no sexto dia dosou também 400.000 DMM/camundongo. No entanto, quando se adiciona sobre o balão n.º 3 o restante do meio de cultura (Balão n.º 3A), a toxina, titulada após outros 6 dias de incubação, chegou seguramente a dosar 800.000 DMM/camundongo. Tal experimentação parece indicar que a toxigênese máxima obtida no sexto dia não deve ocorrer por esgotamento dos componentes do meio, pois o Balão n.º 3, contendo o dobro dos ingredientes, não ultrapassou o título obtido com o Balão n.º 2. Talvez o acúmulo de metabólitos iniba o crescimento e consequentemente cause diminuição da toxigênese, essa sugestão decorre dos resultados obtidos com o Balão n.º 3A, onde foi adicionada, após 6 dias de crescimento, na porção do mesmo meio, tendo ocorrido, como consequencia, nítido aumento da quantidade de toxina, chegando a obter-se 800.000 DMM/camundongo. Tais resultados parecem ainda contradizer o fato de que a lise bacteriana seja a única responsável pela toxigênese. No nosso caso, parece lícito raciocinar-se que a adição de novo meio de cultura torna a promover novo crescimento além de diluir excessiva concentração de metabólitos impedientes do crescimento. Nessas condições, parece que é durante a nova fase de multiplicação bacteriana que surge nova toxigênese. Supõe-se que os resultados obtidos na Tabela XIV, relativos a 3 balões que continham o dobro dos ingredientes, confirmam nosso ponto de vista, pois, aí, os títulos praticamente não ultrapassaram 500.000 DMM/camundongo.

Procuramos também comparar os títulos das toxinas obtidas com o meio de cultura de Wadsworth e o meio de Prévot & Brygoo, parecendo não haver



diferença relevante entre os títulos das toxinas obtidas, conforme podemos comprovar pela comparação entre as Tabelas V e XV.

Ficou em seguida demonstrado que o processo de filtração da toxina acarreta grande perda de toxicidade. Quando se usam filtros Seitz, com placas esterilizantes (EKS), essa perda é de cerca de 70 a 80%; quando se usam velas esterilizantes Mandler, a perda de toxicidade é da ordem de 43,3%; quando se usam velas Berkefeld N, essa perda reduz-se a cerca de 33% (Tabela XVII).

Pela ação do formol as toxinas sofrem processo de destoxificação; segundo Henrique & Sorensen (1909), isso ocorre em conseqüência de um bloqueio, por ação do formol, dos radicais amínicos responsáveis pela toxicidade.

A quantidade de formol a ser empregada, de acordo com vários pesquisadores, varia dentro de um certo limite. Levando em consideração esses fatos, determinamos a quantidade de formol necessária para completa destoxificação, sem prejuízo do poder antigênico. Esse valor, encontrado por nós para a toxina botulínica tipo A, obtida nos meios já citados, foi de 0,5%; nesse caso destoxificação ocorre ao redor de vinte e cinco dias em estufa 37ºC (Tabela XVIII).

O emprego de bons adjuvantes nas vacinas para se obter um alto poder imunizante constitui uma das preocupações primordiais dos pesquisadores. Dentre os adjuvantes usados, o alúmen tem sido o mais empregado para a precipitação da fração antigênica das anatoxinas. Nigg *et alii* (1947) estudaram comparativamente varias amostras de anatoxinas botulínicas tipo A, precipitadas por concentrações diferentes de alúmen em função da resposta antigênica obtida em cobaias.

Apesar de terem verificado que os melhores resultados foram obtidos com 2% de alúmen, empregaram-no a 1%, justificando que, para a imunização humana, apresenta a vantagem de ser menos irritante, observação essa confirmada por Reames *et alii* (1947).

Welikanow (1931) já havia observado, em cobaias, o alto grau de proteção conferido pela anatoxina contra altas doses de toxina homóloga.

Rice *et alii* (1947) obtiveram melhores resultados com cobaias empregando anatoxinas precipitadas pelo alúmen a 1,25%. Verificaram, ainda, que as cobaias que apresentavam em seu soro títulos antitóxicos acima de 0,01 U.A./ml sobreviviam a uma dose de toxinas entre 160.000 a 480.000 DMM.

Os resultados obtidos por nós, também em cobaias, empregando anatoxinas botulínicas tipo A, precipitadas pelo alúmen a 1,25%, equiparam-se aos dos autores acima citados. Tivemos a oportunidade de confirmar também que as cobaias que apresentavam títulos acima de 2 U.A. eram capazes de resistir à inoculação de 100.000 DMM/cobaia.

O primeiro soro antibotulínico foi conseguido por Van Ermengen (loc. cit.) imunizando cavalos mediante inoculações periódicas de quantidades infinitesimais de toxina botulínica.

A imunização com toxina botulínica apresenta alguns inconvenientes, citados por Prévot (1955): "pode provocar reações tóxicas graves nos animais, durante a hiperimunização, determinando um atraso no esquema imunitário, bem como é demorada a indução da formação de anticorpos". Por motivo optamos pela anatoxina, a qual pode ser manipulada sem maiores precauções.

As amostras de anatoxinas precipitadas pelo alúmen que se mostraram mais antigênicas foram utilizadas para a hiperimunização de equinos.

Para a obtenção de uma antitoxina botulínica tipo A, com títulos razoáveis, foi necessário testar vários esquemas de hiperimunização, dentre eles o preconizado por Weinberg & Coy (1925). Nesse esquema os títulos encontrados giravam ao redor de 10 a 40 U.A. Como os resultados obtidos não eram satisfatórios, não determinamos a sangria definitiva.

Tivemos melhor êxito com a elaboração de um esquema de hiperimunização idealizado por nós e apresentado na Secção 3.7. Com esse esquema, obtivemos títulos ao redor de 160 U.A./ml (Tabela XXI) Esse soro, após a purificação e concentração, apresentou um título de cerca de 1.400 U.A./ml (Tabela XXII).

O soro purificado e concentrado foi diluído para que contivesse 500 U.A./ml, de acordo com o que foi estabelecido na XV Seção do "Expert Committee on Biological Standardization", em dezembro de 1962.

CONCLUSÕES

6.1 — Das dez amostras de *Clostridium botulinum* tipo A, existentes na germoteca do Instituto Butantan, quatro cepas mostraram-se mais toxígenas nos meios de cultura por nós utilizados.

6.2 — O período de toxigênese máxima para uma das cepas por nós trabalhadas (Cepa n.º 388-I.B.) ocorre ao redor do 6.º dia de cultivo em meio apropriado e o título decresce após o 15.º dia, quando a cultura é mantida a 37ºC.

6.3 — Variando-se a concentração dos componentes do meio de cultura, há também variações na toxigênese, do que se depreende que a produção de exotoxina está, até certo ponto, diretamente ligada à concentração dos componentes do meio de cultura.

6.4 — Parece que é durante a fase de multiplicação bacteriana que se dá a toxigênese.

6.5 — As toxinas obtidas em ambos os meios de cultura utilizados, Wadsworth e Prévot & Brygoo, não apresentaram diferença relevante, no que diz respeito a títulos tóxicos.

6.6 — A quantidade de formol necessária à destoxificação das toxinas botulínicas tipo A por nós obtidas foi de 0,5%, ocorrendo a transformação em anatoxina ao redor de vinte e cinco dias a 37ºC. Nessas condições é melhor preservada a antigenicidade.

6.7 — O esquema de hiperimunização para equinos, preconizado neste trabalho, fornece a resposta rápida e com razoáveis títulos de anticorpos.

6.8 — A mistura de plasma das diversas hiperimunizações reunidas permite obter-se um soro purificado com alto título de anticorpos.



6.9 — É certamente a primeira vez que se prepara no Brasil o soro antibotulínico tipo A para fins terapêuticos, o que coloca nosso país entre os cinco países do mundo a produzir o referido sôro em escala industrial.

SUMMARY — Since no antitoxins for *Clostridium botulinum have* been so far produced in Brazil, the author decided to study the possibility to obtain these preparations at the Department of Immunology in the Instituto Butantan.

Various means of toxin obtention for *C.b.* type A have been assayed, resulting in toxins at a mouse test level of about 800,000 MLD, which, converted into antoxins, were used in the hyperimmunization of horses.

The author found out that the scheme of hyperimmunization is fundamental to obtain good neutralizing titers, and finally achieved a hyperimmune plasma containing 160 antitoxin units/ml. After purification and concentration this serum had a titer of about 1,400 antitoxin units/ml. Diluted to contain 500 antitoxin units/ml, it is now available for eventual human accidents.

UNITERMS — Botulism;
Intoxication by the ingestion of contaminated preserved food.

AGRADECIMENTOS

Para a realização do presente trabalho foram vários os amigos e colegas que contribuiram de um modo ou de outro, direta ou indiretamente. A todos, os meus profundos agradecimentos. A alguns nomes de colegas e amigos queremos fazer especial referência.

Ao Professor Doutor REYNALDO SCHWINDT FURLANETTO, Professor Titular do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas, a quem devo minha iniciação científica e ainda a sugestão do presente trabalho, orientação e crítica do original, a minha eterna gratidão.

Igualmente e especialmente, ficamos gratos ao Professor Livre-Docente, Dr. ANDREJUS KOROLKOVAS, da Disciplina de Química Farmacêutica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, pela orientação em redigir e dispor a matéria da presente tese e correção do vernáculo em várias fases da redação.

É justo ainda destacar nosso reconhecimento ao Dr. RAYMUNDO ROLIM ROSA, Diretor da Divisão de Microbiologia e Imunologia do Instituto Butantan, pelo auxílio na fase de redação deste trabalho.

À Dra. JANDYRA PLANET DO AMARAL, Diretora do Instituto Butantan, pelo irrestrito apoio.

Aos Drs. HISAKO GONDO HIGASHI e MEDARDO SILES VILLARROEL, pela inestimável colaboração na parte técnica.

À Da. FERNANDA I. PIOCHI, Bibliotecária-chefe do Conjunto das Químicas e à sua colaboradora, Da. OLGA MENDONÇA FRANÇA CARVALHO, pelo indispensável auxílio prestado na parte referente à bibliografia.

Ao Prof. Dr. OMAR JAQUES MARZAGÃO BARBUTO, Diretor do Instituto de Zootecnica e Indústrias Pecuárias "Fernando Costa", de Pirassununga, pela colaboração na impressão deste trabalho.

Dedicatória Aos meus pais, pela orientação e educação.
À minha esposa e filhos, pelo estímulo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALEXANDER, M. — Therapie des botulismus. *Deut. Med. Wschr.*, Leipzig, 45: 2177, 1968.

2. BENGSTON, J. A. — Preliminary note on a toxin-producing anaerobe isolated from the larvae of *Lucilia coesar*. *Publ. Hlth. Rep.*, Washington, 37: 164-771, 1922.

3. BENGTSON, I.A. — Standardization of botulism antitoxins. *Amer. J. Publ. Hlth.*. New York, 11: 352-357, 1921.

4. BERGEY, D. H. & ETRIS, S. — Active imunization against tetanus infection with refined tetanus toxoid. *J. Immun.*, Baltimore, 31: 363-371 1936.

5. BRITISH PHARMACOPEIA 1963. London, Pharmaceutical Press, 1963, p. 109, 1908-1106.

6. BIER, O. — *Bacteriologia e imunologia em suas aplicações à medicina e higiene.* 10.ª ed. Rio de Janeiro, Melhoramentos, 1961.

7. BIGELOW, W. D. & ESTY, J. R. — The thermal death point relation to time of typical thermophic organisms. *J. Infect. Dis.*, Chicago, 27: 602-617, 1920.

8. BOUROFF, A. & NASLEDICHEFF, S. — *Bull. Inst. Metch.*, 1: 35, 1936. Apud PRÉVOT, A. R. *Biologie des maladies dues aux anaérobies.* Paris Flammarion, 1955, p. 160.

9. BOWMER, E. J. — Preparation and assay of the International Standards for *Clostridium botulinum types* A, B, C, D and E antitoxins. *Bull. Org. Mond. Santé, Gèneve,* 29: 70, 1963.

10. BUNNEY, W. E. — The action of formaldehyde on diphteria toxin. *J. Immun.*, Baltimore, 20: 47-59, 1931.

11. BURROWS, W., MOULDER, J. W. & LEWERT, R. M. — Toxinas microbianas. In: — *Tratado de Microbiologia*, México, Interamericana, 1963, p. 265-267.

12. CARTWRIGHT, T. E. & LAUFFER, M. A. Temperature effects on Botulinum A toxin. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, New York, 98: 327-330, 1968.

13. CLIFTON, C. E. — The utilization of amino acids of glucose by *Clostridium botulinum. J. Bact.*, Baltimore, 39: 485-497, 1940.

14. DICKSON, E. C. & BURKE, G. E. — A method of isolating bacillus botulinus from infected materials. *J. Amer. Med. Assoc.*, Chicago, 71: 518-521, 1918.

15. DICKSON, E. C. — *Botulism a clinical and experimental study.* Monograph of Rockefeller Institute for Medical Research, New York, nº 8, January 31, 1918.

16. DOLMAN, C. E. & CHANG, H. — *Canad. J. Publ. Hlth.*, Toronto, 43: 38, 1952. Apud PRÉVOT, A. R. — *Biologie des maladies dues aux anaérobies.* Paris, Flammarion, 1955, p. 200.

17. DOLMAN C. E. — Additional botulism episodes in Canada. *Can. med. Assi. J.*, Toronto, 71: 245-249, 1954.

18. DUMAS, J. Bacteriologie medicale. Paris, Flammarion, 1951, p. 692-706.



19. EHRLICH, P. — *Dtsch. Med. Wschn.*, Stuttger U., 24: 597, 1900. Apud BIER, O. — *Bacteriologia e imunologia em sua aplicação à medicina e higiene.* 10ª ed. Rio de Janeiro, Melhoramentos, 1961, p. 207.

20. ELBERG, S. S. & MEYER, K. F. The extracellular proteolytic system of *Clostridium parabotulinum. J. Bact.*, Baltimore, 37: 541-565, 1939.

21. ERMENGEN, E. VAN — Untersuchung über Falle von Fluschvergiftung mit Symptomen von Botulismus. *Zentbl. Bakt. Parasitkde*, Jena, 19: 442-444, 1896.

22. ERMENGEN, E. VAN — Recherchés sur des accidentes à caracteres botuliniques. *Archs. Int. Pharm. Ter.*, Bruxelas, 3: 213-350, 499-601, 1897..

23. ERMENGEN, E. VAN — Recherchés sur des empoisonnements. *An. Soc. Med. Gand.*, 75: 28-30, 1899.

24. FASQUELLE, R. — Elements de bacteriologie medicale, 1957. Apud PEREIRA FILHO, M. J. — Diagnóstico biológico do surto de botulismo humano do Pronto Socorro de Pôrto Alegre: *Med. Cirurg.*, Pôrto Alegre, 19 (2): 58, 1958.

25. FERREIRA, E. B. — Botulismo: síntese clínica. *Med. Cirurg.*, Pôrto Alegre, 19 (2): 9-41, 1958.

26. FURLANETTO, R. S. — Purificação e concentração do soro antiloxoscélico. In — Estudos sobre a preparação do soro antiloxoscélico. São Paulo, 1961, p. 64-65. [Tese]

27. GLENNY, A. T., POPE, C. G., WADDINGTON, H. & WALLACE, U. — Immunological notes. XXIII. The antigenic value of toxoid precipitated by potassium alum. *J. Path. bac.*, London, 29: 38-39, 1926.

28. GLOTOWA, E. W. & DANKEROWITZ, A. K. — Zur standardisierung des Antibotulinus serums. *Zentbl. Bakt. Parasitkde*, Jena, 133: 155-158, 1935.

29. GUNNISON, J. B. & MEYER, K. F. — The occurrence of nontoxic strains of *Cl. parabotulinum* XXXIV. *J. Infect. Dis.*, Chicago, 45: 79-86, 1929.

30. GUNNISON, J. B., CUMMINGS, J. R. & MEYER, K. F. — *Clostridium botulinum* type E. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, New York, 35: 278-280, 1936.

31. GUNNISON, J. B. — Studies on the antigenic substances of *Clostridium parabotulinum. J. Immun.*, Baltimore, 26: 17-24, 1937.

32. HALL, I. C. — The occurrence of bacilus botulinus types A and B, in accidental wounds. *J. Bact.*, Baltimore, 50: 213-217, 1945.

33. HARRISON, W. T. — Some observations on the use of alum precipitate diphteria toxoid. *Am. J. Publ. Hlth.*, Albany, 25: 289-300, 1935.

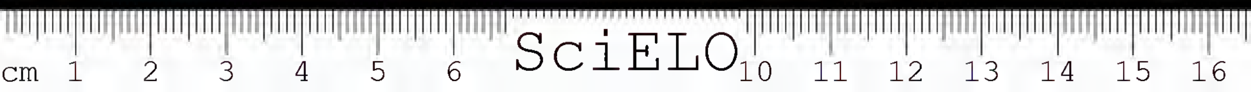
34. HENRIQUE & SORENSEN — *Z. physiol. chem.*. 64: 120, 1909. Apud HAWK, P. B., BERNARD, L. O. & WILLIAMS, H. S. — *Practical physiological chemistry.* 12th ed. New York, Blakiston, 1949, p. 116, 117, 837.

35. HEWITT, L. F. — Note on the possible mechanism of diphteria toxoid formation. *Biochem.* J., Liverpool, 24: 983-992, 1930

36. HOTTLE, G. A. & MIGG, C. — Studies on botulinum, toxoid types A and B. II. Methods for determining antigenicity in animals. *J. Immun.*, Baltimore, 55: 255-262, 1947.

37. INUKAI, Y. — Effect of carbohydrate on toxin production by *Clostridium botulinum* type A. *Jap. J. Vet. Res.*, Sapporo, 10 (2): 64-71, 1962.

38. JERAMEC, C. — Toxine et antitoxine botulinique. *Revue Immunol. Thér. antimicrob.*, Paris, 2: 209-220, 1936.



39. KATITCH, R. V. & KALEMBER, M. — *Higiena,* México, 13: 243-245, 1961. Apud PRÉVOT, A. R., TURPIN, A. & KAISER, P. — *Les bactcries anaerobies.* Paris, Dunod, 1967, p. 1084.

40. KEMPNER, W. & POLLACK, B. — Die Wirkung des botulismus toxins und seines specifichen antitoxins auf die Nervenzellen. *Deut. Med. Wschr., Leipzig,* 23 (32): 505-507, 1897.

41. KEPPIE, J. — Comunicação pessoal. 1970.

42. KERNER — Neu Biobachtungen über die in würt so haufig Norfallender todlichen vergiftungen, 1820. Apud WEINBERG, M., NATIVELLE, R. & PRÉVOT, A. E. — *Les microbes anaérobies.* Paris, Masson 1937, v. 1, p. 296.

43. KNIGHT, B. C. J. G. — Privy Conunc. *Med. Res. Counc. Epec. Rept. Ser.,* London, (210): 1-182, 1936. Apud *Biol. Abstr.,* Philadelphia, 11: 16707, 1937.

44. KOLLE, W. & HETSCH, H. — *La bactériologie expérimentale.* Trad. by H. Carriere. 3 éme. ed. in French. Paris, Dunod 918, v. 2, p. 93-96.

45. LAMANNA, C. — Oral poisoning by bacterial exotoxins evemplified in bolutism. Ann. *N. Y. Acad. Sci.,* New York, 88: 1109-1114, 1960.

46. LAMANNA, C., MC ELROY, O. E. & EKLUND, H. W. — The purification and crystallisation of *Clostridium botulinum* type A Toxin. *Science,* New York, 103: 613-614, 1946.

47. LANE, C. R. — Botulism. *Lancet,* London, 124: 1377, 1935.

48. LANNE. C. R. & JONES-DAVIES, T. E. — A case of botulism. *Lancet,* London, 229 (2): 717-718, 1935.

49. LEGROUX, R. & JERAMEC, C. Études sur la toxine et l'antitoxine botulíques. *C. r. Seanc. Soc. Biol.,* Paris, 120: 641-643, 1935.

50. LEGROUX, R. & JERAMEC, C. — L'infection botulique du porc. *Bull. Acad.* Med., Paris, 128: 404-405, 1944.

51. LEGROUX, R., LEVADITI, J. C. & JERAMEC, C. — Le botulisme en France pendant l'occupation (1940-1944), *Presse med.,* Paris 10: 109, 1947.

52. LEUCHS, J. — Beitrage fur Kernntnis des Toxins und Antitoxins des B. botulinus. *Z. Hyg. Infektkrankh.,* Leipzig, 65: 55-84, 1910.

53. LINDSAY,R.B., NEWMAN, J. R. & HALL, I. C. — An outbreak of botulism in Wyoming. *J. Amer. med. Ass.,* Chicago, 108 (23): 1961-1964, 1937.

54. LITTAUER, U. —Observations on the type A toxins of *Clostridium botulinum. Nature,* London, 167: 994-995, 1951.

55. MEYER, K. F. & GUNNISON, J. B. — *Cl. botulinum* type D sp. N. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.,* New York, 26: 88-89, 1928/29.

56. MEYER, K. F. & GUNNISON, J. B. — European strains of *Cl. botulinum* XXXVI. *J. Infect. Dis.,* Chicago, 45 (2): 96-105. 1929.

57. MEYER, K. F. — The status of botulism as a world health problem. *Bull. Org. Mond Santé. Genève,* 15: 281-298, 1956.

58. MOLLER, V. & SHEIBEL, I. — Preliminary report on the isolation of an apparently new type of *Cl. botulinum. Acta path. microbiol. scand.,* Kobenhavn, 48, p. 80, 1960.

59. NAUWERCK, V. — Med. Consp. Bl. F. Wärt Lanchsver, 46, 1886. Munc. med. Wochenschr. (30), 1886. Apud WEINBERG, M., NATIVELLE, R. & PRÉVOT, A. R. — *Les microbes anaérobies.* Paris, Masson, 1937, p. 296.



60. NIGG, G., HOTTLE, G. A. COREILL, L.L., ROSENWALD, A. S. & BEVERIDGE, G. W. — Studies on botulism toxoid, type A and B. I. Production of alum precipitated toxoids. *J. Immun.*, Baltimore, 55: 245-254, 1947.

61. OHYE, D. F. & SCOTT, W. J. — The temperature relations of *Clostridium botulinum*, types A and B. *Austr. J. biol. Sci.*, Melbourne, 6: 178-189, 1953.

62. ORR, P. F. — A rapid method determining the presence and type of botulinus toxin in contamined foods. *J. Infect. Dis.*, Chicago, 29: 287-290, 1921.

63. OSHEROFF, B. J., SLOCUM, G. G. & DECKLER, W. M. — Status of botulism in the United States. *Publ. Hlth. Rep.*, Washington 79: 871-878, 1964.

64. PEREIRA FILHO, M. J. — Diagnostico biológico do surto de botulismo humano do Pronto Socorro do Pôrto Alegre. *Med. Cirurg.*, Pôrto Alegre, 19 (2): 52-111, 1958.

65. POLSON, A. & STERNE, M. — *Sci. mat.*, Paris, 158: (400): 238, 1946. Apud PRÉVOT, A. R. — *Biologie des maladies ducs aux anaérobies.* Paris, Flommarion, 1955, p. 212.

66. PRÉVOT, A. R. & BRYGOO, E. R. — Recherches sur les comunautés antigeniques entre les cinq toxines botuliniques. *Ann. Inst. Pasteur*, Paris, 84: 1037-39, 1953.

67. PRÉVOT, A. R., BRYGOO, E. R. & SILLIOC, R. — Action de la cortisone sur l'immunization du lapin par l'anatoxine botulinique B. *Ann. Inst. Pasteur*, Paris, 85: 255-257, 1953.

68. PRÉVOT, A. R. — *Biologie des maladies dues aux anaérobies.* Paris, Flammarion, 1955, p. 159-221.

69. PRÉVOT, A. R. TURPIN, A. & KAISER, P. — *Les bacteries anaérobies.* Paris, Dunod, 1967, p. 1140-1274.

70. PRÉVOT, A. R. — *Techniques pour le diagnostic des bacteries anaérobies.* St. Mandé, Editions de la Tourelle, 1966, p. 27-36

71. QUARATO, B — Botulismo nella provincia de Foggia. *Policlinico*, Roma, 68: 389, 1961.

72. RAMBERT, P. & EMILE-ZOLA, F. — Les formes mortelles du botulisme. Presse *méd.*, Paris, 54: 486-497, 1946.

73. RAMON, G. — Sur la toxine et sur l'anatoxine diphtérique. *Ann. Inst. Pasteur*, 38: 1-10, 1924.

74. RAMON, G. — La floculation dans les melanges de toxine et de serum antidiphterique. *Ann. Inst. Pasteur*, Paris, 37: 1001-1011, 1923.

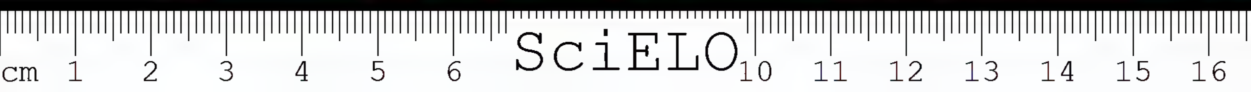
75. REAMES, H. R., KADULL, P. J., HOUSEWRIGHT, R. D. & WILSON, J. B. — Studies on botulinus toxoids, types A and B. III. Immunization of man. J. *Immun.*, Baltimore, 55: 309, 324, 1947.

76. REED, L. J. & MUENCH, H. — A simple method of stimating fifty per cent endpoints. *Am. J. Hyg.*, Baltimore, 27: 493-497, 1938.

77. RICE, C. E. — A preliminary study of antigenic activity of mixtures of *Clostridium botulinum* toxoid. *Can. J. Res. ser, E. Med. Sci.*, Ottawa, 25: 181-187, 1947.

78. RICE, C. E., PALLISTER, E. F., SMITH, L. C. & REED, G. B. — *Clostridium* botul*inum* type A toxoides. *Can. J. Res. ser. E. Med. Sci.*, Ottawa, 25: 167-174, 1947.

79. RODOPOULO, A. K. — Metabolism of Bacillus botulinus. *Mikrobiologiya*, Moscow, 20: 26-32, 1951.



80. ROUX, E. & YERSIN, A. Contribution a l'étude de la diphtérie. *Ann. Inst. Pasteur,* Paris, 2: 629-661, 1888.

81. ROUX, E. & YERSIN, A. — Contribution a l'étude de la diphtéric. *Ann. Inst. Pasteur,* 3: 273-288, 1889.

82. SCHOENHOLZ, P. & MEYER, K. F. — Studies on the serologic classification of B botulinus. II. Agglutination. *J. Immun., Baltimore,* **10**: 1-54, 1925.

83. SCHOENHOLZ, P. & MEYER, K. F. — Effect of direct sunlight, diffuse day-light and heat on potency of botulinus toxin in culture mediums and vegetable products: XXIV. *J. Infect. Dis.,* Chicago, **35**: 361-389, 1924.

84. SOMMER, E. M. & SOMMER, H. — Studies on botulinus toxin. *J. Infect. Dis.,* Chicago, **43**: 496-506, 1928.

85. STEVENSON, J. W., HELSON, V. & REED, G. B. — A Casein digest medium for toxin production by *Clostridium. Can. J. Res. ser. E. Med. Sci.,* Ottawa, **25**: 9-13, 1947.

86. STEVENSON, J. W., HELSON, V, & REED, G.B. — Preparation of *Clostridium parabotulinum toxins. Can. J. Res. ser. E. Med. Sci.,* Ottawa, **25**: 14-15. 1947.

87. STEWART, G., DEAL, S. J. & BROWN, W. R. — *Bact. Proc.,* Baltimore, **62**: 49G6O, 1962. Apud PRÉVOT, A. R., TURPIN, A. & KAISER, P. — *Les bacteries anaérobies.* Paris, Dunod, 1967, . 1143.

88. STOVER, J. H., FINGERMAN, M. & FORESTER, R. H. — Botulinum toxin and the motor end,-plate. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.,* New York, **84**: 146-147, 1953.

89. STRASSBURGER, H. — Botulinusintoxikation nach genuss von Schnittlohne-konserver. *Arch. Hyg. Bakt.,* Berlin, **131**: 35-38, 1943. Apud PRÉVOT, A. R. — Biologie *des maladies dues aux anaérobies.* Paris, Flammarion, 1955, p. 196.

90. STUMBO, C. R. — Thermobacteriology as applied to food processing. *Adv. Fd. Res., New York,* 2: 47-115, 1949.

91. TARDIEUX, P., HUET, M. & BJÖRKLUND, B. — Étude d'infections de catgut par Cl *botulinum* A. *Ann. Inst. Pasteur,* Paris,**82**: 763-765, 1952.

92. TAROZZI, G. — Observasioni sulla natura dei fenomeni che determinaro la esigenza anaerobia nella culture dei germe anaerobia. *Atti R. Accad. Fisiocr.,* Siena, **17**: 19017, 1907.

93. THEILER, A. & ROBINSON, E. M. — Parabotulisme des equidés. *Révue gén.* Méd. *vét.* Toulousse, **36**: 193-199, 1927.

94. THEILER, A, & ROBINSON, E. M. — Der botulismus der hanstiere. *Z. Hyg. Infcktkranh.,* Leipzig, **165**: 220, 1927.

95. TYLER, H. R. — Pathology of the neuromuscular apparatus in botulism. *Arch. Path.,* Chicago, **76**: 55-59, 1963.

96. UNDERWOOD, E. J., HARVEY, R. J. & PECK, A. B. — Biochemical data on the blood and urine sheep in the botulism areas of western Australia. *Aust. J. exp. Biol. med. Sci.,* Adelaide, **17**: 193-203, 1939.

97. VAN HEYMINGER, W. E. — Bacterial toxins. Oxford, Black-well, 1950, 14 p.

98. VELIKNOV, I. — Immunisation experimentale de l'homme contre le botulisme. *Gior. Batt. Immun.,* Torino, **17**: 451-456, 1936.

99. WADSWORTH, A. B. — *Standard methods.* 2nd. ed. Baltimore, Williams Wilkins, 1947, 190-205-636-638 p.



100. WAGMAN, J. — Isolation and sedimentation study of low molecular weight forms of type A Botulinus toxins. *Arch. Bioch. Biophys.*, New York, 50: 104-112, 1954.

101. WEINBERG, M. & GOY, P. — Empoli de l'anatoxine dans la preparation du sérum antibotulinique. *C. r. Soc. Biol.*, Paris, 92: 564-565, 1925.

102. WEINBERG, M. & GOY, P. — De anatoxine botulinique. *C. r. Soc. Biol.*, Paris, 91: 148-149, 1924.

103. WEINBERG, M. & GINSBOURG, B. *Données récents sur les microbes anaérobies et leur rôle en pathologie.* Paris, Masson, 1927, p. 88-113.

104. WEINBERG, M., NATIVELLE, R. & PRÉVOT, A. R. — *Les microbes anérobies.* Paris, Masson, 1937, v. 1, p. 294-341.

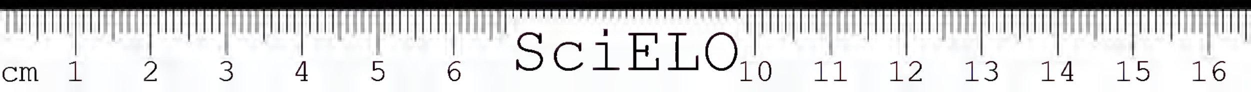
105. WELIKANOW, I. M. — Experimentelle Vakzination gegen den Botulismus. *Z. Immun. Forsch. exp. Ther.*, Jena, 70: 186- 194, 1931.

106. WYNNE, S. E. — Physiological studies on spore formation in *Clostridium botulinum. J. Infect. Dis.*, Chicago, 83: 243-249, 1948.

107. ZEISSLER, J. K. — Anaërobenzüchtung. In: — KOLLE, W. — *Handbuch der Pathogenen Mikroorganismen.* Jena, Fischer, 1930, 10: p. 35-144.

Recebido para publicação em 10 de agosto de 1972.

Aceito em 11 de agôsto de 1972.



Mem. Inst. Butantan
36: 41-49, 1972.

A ANTIBIOTICOTERAPIA NO CHOQUE TRANSFUSIONAL POR SANGUE CONTAMINADO — ESTUDO EXPERIMENTAL EM CAMUNDONGO

BRUNO SOERENSEN (*)
GILDA MEIRE ROSENBERG (**)

(Laboratório Clínico-Veterinário da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu)

RESUMO — Estuda-se a sensibilidade a antibióticos de 24 cepas isoladas de sangue estocado, sendo 12 do gênero *Pseudomonas;* 8 do gênero *Enterobacter* e 4 do gênero *Bacillus.*

Os antibióticos para os quais os microrganismos revelaram maior sensibilidade foram a Gabromicina, Kanamicina, Estreptomicina e Neomicina. Os 3 primeiros antibióticos foram administrados em dose terapêutica em camundongos após 30 minutos de transcorrida a inoculação de sangue contaminado, verificando-se uma diminuição da letalidade, de preferência nas primeiras 8 horas de observação.

Diante dos resultados concluem pela possibilidade de êxito da antibioticoterapia no choque transfusional por sangue contaminado, destacando-se especialmente a Estreptomicina, seguida pela Gabromicina e a Kanamicina.

UNITERMOS — Antibioticoterapia. — Choque transfusinal por sangue contaminado. — Contaminação bacteriana.

Numerosos são os acidentes, geralmente fatais, registrados em todo mundo em decorrência da transfusão de sangue e plasma contaminados (1-5-6-7-8-9-11-12-13-15-18-25-26-27-29-31).

As manifestações clínicas observadas são: tremores, febre (geralmente dentro de uma hora após o início da transfusão), náuseas e uma rápida queda da pressão sanguínea, com colapso vascular perisférico (7), podendo se verificar a morte num período de aproximadamente 30 horas (29).

Com referência ao tratamento, os choques endotoxêmicos atualmente são tratados com heparina (16) ou asseciada a antibióticos com resultados em geral muito bons (17). Efetivamente foi demonstrada (19-20-21) a importância da coagulação intravascular disseminada no choque endotoxêmico assemelhando-o plenamente à reação generalizada de Shwartzman-Sanarelli, estudada por diversos autores no que diz respeito aos fenômenos da coagulação (22-23-24-28).

Outros autores recomendam o uso da noradrelina em infusão-venosa (8-26), podendo ser associada a corticoesteroides (26). O uso de antibióticos afim de combater o agente bacteriano é indicado por diversos autores

* Diretor Substituto da Divisão de Microbiologia e Imunologia do Instituto Butantan e Professor das Disciplinas de Laboratório Clínico Veterinário e de Higiene Veterinária e Saúde Pública da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu

** Aluna do 4.º ano da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da U.S.P.

Endereço para correspondência:
C.P. 65, São Paulo, Brasil.

(6-8-13-26), porém, sendo a toxina produzida pela bactéria, o elemento responsável pelo síndrome, os antibióticos desempenhariam papel secundário (3).

Efetivamente ,as bactérias que interessam a Banco de Sangue são de maneira geral saprofitas e foi demonstrado em trabalho experimental que o fator responsável pelas reações agudas e pelas mortes é a endotoxina bacteriana (14).

As opiniões referentes ao uso de antibióticos, portanto, são contraditórias; sendo assim, nos pareceu de importância a verificação da escolha dos mesmos através de antibiogramas realizados com cepas isoladas de sangue contaminado e ainda o seu efeito protetor em comundongos inoculados com estes sangues, uma vez que a urgência no tratamento não possibilita a realização de antibiograma.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizamos 24 cepas bacterianas que isolamos de sangue estocado, sendo 12 do gênero *Pseudomonas*, 8 do gênero *Enterobacter* e 4 do gênero *Bacillus*. Estas bactérias foram identificadas pelos Drs. Margaret Pittman e Charles R. Manclark, do National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, U.S.A. As cepas correspondentes aos números 1919 e 3192 foram identificadas por nós.

I — ANTIBIOGRAMA: Para cada cepa foi determinada a sensibilidade a antibióticos e sulfamidas em placas com agar sangue (10), utilizando discos de papel, "Polidiscos Vitor Lorian".

Diante dos resultados, (Tabelas I e II) escolhemos os 3 primeiros antibióticos, que apresentaram melhores resultados: Estreptomicina, Kanamicina e Gabromicina, a fim de inocularmos em camundongos; a Neomicina não foi escolhida devido a sua toxidez (2).

II — ANTIBIOTICOTERAPIA: Com a finalidade de testar a atividade dos antibióticos, procedemos inicialmente a colheita asséptica de sangue de cão em solução A.C.D., distribuindo em 25 frascos de 40 ml, e após realizar bacterioscopia em lâmina corada pelo azul de metileno (30), constatando a ausência de bactérias, foi procedida a contaminação proposital com 1 ml. de cultura de 24 horas em caldo simples, para cada cepa. Um frasco não foi contaminado a fim de permanecer como controle.

Os frascos foram mantidos em geladeira (4-6.°C) por 10 dias. Após esse período repetimos a bacterioscopia constatando o desenvolvimento bacteriano, foi incluído ainda o método de Gram para relacionar as características morfológicas e tintoriais com as cepas contaminantes correspondente a cada frasco de sangue.

Inoculamos 0,5 ml. de sangue contaminado com cada cepa por via intraperitoneal em 4 grupos de 16 camundongos Swiss machos de 12-18 g. (14). Transcorrido 30 minutos (tempo correspondente aproximadamente ao início da sintomatologia após iniciada a transfusão de sangue contaminado) foram inoculados os animais dos grupos correspondentes a cada cepa bacteriana com uma dose terapêutica de Estreptomicina (14mg/kg de peso); Kanamicina (7mg/kg de peso); Gabromicina (10mg/kg de peso) no volume de 0,5 ml.

por via intraperitoneal. Um grupo de 16 camundongos para cada cepa recebeu apenas a inoculação de sangue contaminado (controle de toxidez de cada cepa usada) e ainda um grupo de 16 animais recebeu apenas sangue mantido em idênticas condições mas sem ter sido contaminado (controle do sangue).

Os animais foram observados após 8, 24 e 48 horas de transcorrida a inoculação do sangue, sendo registrados os animais mortos nos diferentes períodos.

RESULTADOS

1. Pela observação das Tabelas I e II verificamos que os melhores antibióticos foram a Gabromicina, Kanamicina, Estreptomicina e a Neomicina.

2. No referente a capacidade de proteção exercida pelos antibióticos diante da inoculação de sangue contaminado (Tabela III), pode-se observar quo a Estreptomicina mostrou-se eficaz diminuindo a letalidade dos animais, especialmente nas primeiras 8 horas (23 mortes em 384 animais), quando comparado com o grupo de animais controle, que recebeu apenas sangue contaminado (180 mortes em 384 animais); quanto a Gabromicina e a Kanamicina, mostraram-se também uteis, mas de maneira geral, em grau menor.

DISCUSSÃO

Os nossos resultados são comparáveis aos obtidos por outros autores (14), verificando-se êxito com a antibioticoterapia; os mesmos autores interpretam esta diminuição da letalidade pelo retardamento da multiplicação bacteriana.

É possível ainda que o mecanismo seja diferente, pois existe a possibilidade da neutralização da endotoxina bacteriana por antibiótico, como foi observado experimentalmente com a endotoxina meningocócica diante da Penicilina (4).

Pode-se observar, diante dos resultados, que existe indicação especial da Estreptomicina, Gabromicina e Kanamicina no choque transfusional por sangue contaminado, destacando-se dos 3 antibióticos a Estreptomicina.

CONCLUSÃO

Após análise de nossos resultados, concluímos pela possibilidade de êxito da antibioticoterapia no choque transfusional por sangue contaminado, destacando-se especialmente a Estreptomicina, seguida da Gabromicina e da Kanamicina.

SUMMARY — The authors studied the sensibility to antibiotics of 24 bacterial strains isolated from stored blood, 12 of which belong to the genus *Pseudomonas,* 8 to *Enterobacter* and 4 to *Bacillus.*

Gabromycin, Kanamycin, Streptomycin and Neomycin were the drugs to which these microorganisms were most sensitive. A therapeutic dosis of each of the first three antibiotics, given to mice 30 minutes after inoculation of



SOERENSEN, B. e ROSENBERG, G. M. — A antibioticoterapia no choque transfusional por sangue contaminado — estudo experimental em camundongo. *Mem. Inst. Butantan, 36*: 41-49, 1972.

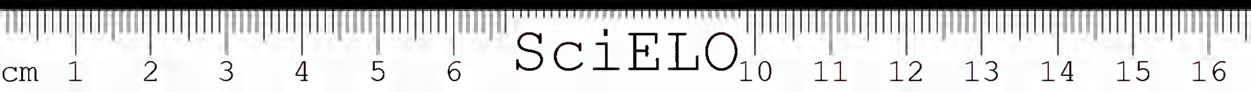
contamined blood, caused a decrease of lethality, specially within the first 8 hours.

In view of the obtained results the authors consider the possibility of a successful treatment by antibiotics of shock after transfusion of contaminated blood. The best results were obtained with Streptomycin followed by Gabromycin and Kanamycin.

UNITERMS — Antibiotic therapy. — Shock by the transfusion of contaminated blood. Bacterial contamination.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem pela identificação das cepas à Dra. Margaret Pittman, Chief, Laboratory of Bacterial Products. Division of Biologies Standards e ao Dr. Charles R. Manclark, também do National Institutes of Health, Bethesda, Maryland (U. S. A.).



SOERENSEN, B. e ROSENBERG, G. M. — A antibioticoterapia no choque transfusional por sangue contaminado — estudo experimental em camundongo. *Mem. Inst. Butantan, 36*: 41-49, 1972.

BIBLIOGRAFIA

1. ANDRÉ, E.; GERMAIN, A. et POLACCO, E. — A propos d'un accident transfusional dù à la contamination bactérienne du sang conservé par un bacille Gram-négatif. Considérations cliniques physio-pathologiques et therapeutiques — *Bull. Soc. Med. Hop. Paris*, 75: 811-817, 1959.

2. BARBER, M. and GARROD, L. P. — Antibiotic and chemotherapy — E. S. Livingstone Ltd. — Edinburg and London, 1963.

3. BONNEL, P. H. — Bacterial contamination of preserved blood and derivatives. — *Box. Sang.* 6: 60-67, 1961.

4. BOOR, A. K. and MILLER, C. P. — The effect of penicillin on the lethal action of meningococcal endotoxin in experimental animal. *Science* 102: 427-428, 1945.

5. BORDEN, C. W. and HALL, W. H. — Fatal transfucion reactions from massive contamination of blood — *New Engl. J. Med.* 245: 760-765, 1951.

6. BRAUDE, A. I.; SANFORD, J. P.; BARLETT, J. E. and MALLERY, O. T. JR. — Effects and clinical significance of bacterial contaminants in transfused blood — *J. Lab. Clin. Med.* 39: 902-916, 1952.

7. BRAUDE, A. I. — Transfusion reactions from contamined blood. Their recongnition and treatment. *New Engl. J. Med.*, 258: 1289-1293, 1958.

8. BRAUDE, A. I.; WILLIAMS, D.; SIEMIENSKY, J. and MURPHY, R. — Shock like state due to transfusion of blood contaminated with Gram negative bacteria — *A. M. A. Arch. Int. Med.* 92: 75-84, 1953.

9. COFRE, H. L. — Accidentes mortales consecutivos a la transfusion de plasma — Rev. *Med.* Chile, 72: 942-947, 1944.

10. ERICSON, H.; HOGMAN, C. and WICKMAN, K. — A paper disk method for determination of bacterial sensitivity to chemotherapeutic and antibiotic agents — *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 6, suppl. 11: 23-36, 1954.

11. FARIA, R. — Aspectos microbiológicos da Hemoterapia — *Rev. Clin. de São* Paulo, 33: 6-20, 1957.

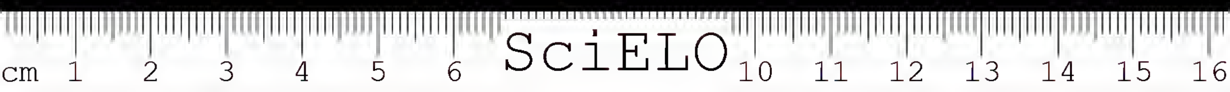
12. FARIA, R. — A bacterioscopia direta pré-transfusional e sua importância clínica — *Arq. Biol.* 44 (330): 89-98, 1960.

13. FARIA, R. — Sangue contaminado por bactéria psicrofilica (A. faecalis). Choque transfusional não mortal — *Rev. Paul. Med.* 52: 309-310, 1958.

14. GELLER, P.; and JAWETZ, E. — Experimental studies on bacterial contamination of bank blood — I the nature of "toxicity" contamination blood — *J. Lab. Clin. Med.*, 43: 696-706, 1954.

15. GERMAIN, A., ANDRÉ, R. et POLACCO, E. — A propos de deux accidents transfusionels graves par souillure bactèrienne — *Mem. Acad. Chir.* 85: 378-385, 1959.

16. GUERRA, C. C. C., — Comportamento de fatores da hemostasia na evolução da gastroenterocolite aguda infantil. Tese de doutoramento apresentada à Escola Paulista de Medicina, São Paulo, 1970.



17. GUERRA, C. C. C., PIO DA SILVA, M. e LUTFI, N. J. — Trombose intravascular disseminada na gastrenterocolite aguda infantil. *Jornal de Pediatria*, Rio (GB) **37**: 22-29, 1972.

18. MASSÉ, L.; BENTEGEAT, J. et MASSÉ, C. — A propos des accidents dus à la transfusion de sang infecté. — *Mem. Acad. Chir.* **85**: 385-389 1959.

19. MCKAY, D. G. and MERRIAM, J. C. — Vascular changes induced by bacterial endotoxin during generalized Shwartzman reaction. *Arch. Path.*, **69**: 524-530, 1960.

20. MCKAY, D. G. — Disseminated intravascular coagulation. An intermediary mechanism of disease — New York, Harper & Row, Publishers 1965, p. 493.

21. MCKAY, D. G., WHITAKER, A. N. and CRUSE, V. — Studies on catecholamine Shock — *Am. J. Path.* 56: 177-192, 1969.

22. ROSENFELD, G. — Facteurs de la coagulation et réactions hémorragique locale de Shwartzman. *Proceedings of the VII the International Congress of the International Society of Hematology*. Rome, September, 7-13, 1958, and volume (Communications).

23. ROSENFELD, G., SPANOUDIS S. and NAHAS, L. — Influence of coagulation factors on the Schwartzman reaction; I, Factor VII — *An. Acad. Brasileira de Ciências*, **31**: 67-75, 1959.

24. ROSENFELD, G.; NAHAS, L. and KELEN, E. M. A. — Effect of coagulation factors in the Shwartzman reaction. II. Substance from serum. *Hémostase*, **3**: 343-348, 1963.

25. SANCHEZ MENDAL, L.; GONZALES, C. R.; MANCERA, R. and DOMINGUES, T. J. L. — Profuse bleeding due to transfusion of contaminated blood. Report of 5 cases — *Vox. Sang.* **6**: 170-178, 1961.

26. SANTOS FREIRE, C. A. — Contaminação bacteriana em sangue conservado — *Fôlha Med.*, **50** (4): 237-249, 1965.

27. SCHIER, J. — Zakazona bakteriami krew konserwowana, przyczyna charakterrystycznej postaci wstrzasu septycznego — *Pol. Tyg. Leis*, **23**: 907-910, 1963.

28. SPANOUDIS, S.; EICHBAUMM, F. and ROSENFELD, G. — Inhibition of the local Schwartzman reactions by dicumarol — *J. Immunology*, **75**: 167-170, 1955.

29. SOERENSEN, B.; CORREA, H. C. S.; PEREIRA, C. A. R. e MINGIONE, C. J. G. — Acidentes transfusionais fatais por sangue contaminado. Aspecto bacteriológico — *Rev. Bras. Cir.* (*Bol.* Oncologia) **50** (2): 134-137, 1965.

30. SOERENSEN, B. — A bacterioscopia pré-transfusional em lâmina corada pelo azul de metileno. Técnica para a sua execução. *Rev. Bras. Cir.* (Bol. Oncologia) **50** (4): 245-249, 1965.

31. STEVENS, A. R. JR.; LEGG, J. S.; HENRY, B. S.; DILLE, J. M.; KIRBY, W. M. M. and FINCH, C. A. — Fatal transfusion reaction from contamination of stored blood by gold-growing bacteria. — *Ann. Int. Med.* **39**: 1228-1239, 1953.

Recebido para publicação em maio/72

Aceito para publicação em 9 de novembro de 1972

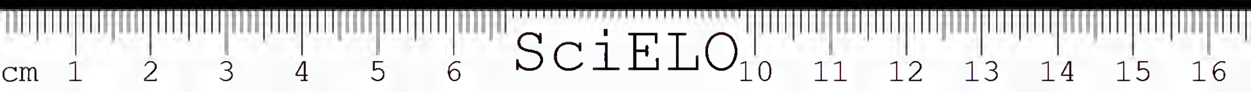


TABELA I

Antibiogramas realizados com bactérias psicrófilas isoladas de sangue estocado

Antibióticos	CEPAS DO GENERO *PSEUDOMONAS*											
	1919	3192	0010(1)	4436(1)	6504(1)	6679(2)	6785(2)	7076(2)	7583(2)	33960(2)	1910(3)	3863(4)
Estreptomicina	++	+++	—	++	++	+++	++	++	++	++	++	++
Kanamicina	++	++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+++	+++	+++
Gabromicina	++	++	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++	+++
Neomicina	++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Cloranfenicol	—	++	—	—	—	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
Rovamicina	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+++	+++	+++
Aureomicina	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Eritromicina	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+++	—	—
Novobiocina	—	++	—	—	—	—	—	—	—	++	—	—
Penicilina	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+++	—	—
Sigmamicina	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+++	—	+++
Terramicina	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+++	—	—
Colistin	—	—	—	+++	—	—	—	—	—	—	—	—
Sulfadiazina	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+++	—	—
Sulfamerazina	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+++	—	—
Sulfatiazol	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+++	—	—
Gantrisin	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+++	—	—
Altafur	—	—	+++	—	—	—	—	+++	—	+++	+++	+++

(1) *Pseudomonas, Sp.* não correspondendo às características de *P. seruginosa; P. fluorescens; P. putida*: *P. stutzeri; P. multivorans; P. maltophilia; P. pseudomallei.* — (2) *Pseudomonas Sp.* similar, mas não identica à *P. stutzeri.* (3) *Pseudomonas multivorans,* — (4) *Pseudomonas fluorescens.*

— Resistente

\+ Levemente sensível

++ Medianamente sensível

+++ Sensível.

TABELA II

Antibiogramas realizados com bactérias psicrófilas isoladas de sangue estocado

Antibióticos	CEPAS DO GÊNERO *ENTEROBACTER*								CEPAS DO GÊNERO *BACILLUS*			
	1323(5)	1530(5)	1533(5)	6892(5)	7860(5)	4011(6)	4979(6)	7582(6)	1044	9223	9437	39992
Estreptomicina	+++	++	++	++	++	++	++	+++	++	++	++	++
Kanamicina	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	—	+++
Gabromicina	++	++	++	++	++	++	++	++	+++	+++	++	+++
Neomicina	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Cloranfenicol	+++	—	+++	+++	+++	—	—	+++	+++	++	—	+++
Rovamicina	—	—	+++	—	—	—	—	+++	+++	+++	—	+++
Aureomicina	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	++
Eritromicina	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+++	—	+++
Novobiocina	—	—	++	—	—	—	—	++	++	++	—	++
Penicilina	—	—	—	—	+++	—	—	—	—	—	—	+++
Sigmamicina	—	—	++	—	—	—	—	—	—	+++	—	+++
Terramicina	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+++
Colistin	—	—	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Sulfadiazina	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+++	—
Sulfamerazina	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+++	+++
Sulfatiazol	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+++	—
Gantrisin	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Altafur	+++	—	—	+++	—	—	—	+++	—	+++	—	+++

(5) *Enterobacter liquefaciens.* — (6) *Enterobacter aerogenes.*

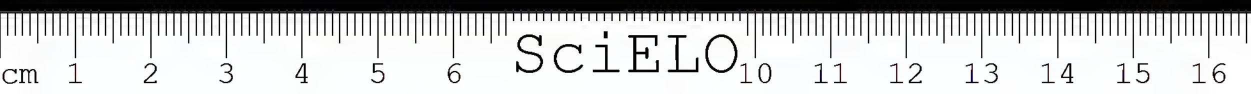
TABELA III

Administração de Antibióticos 30 minutos após inoculação intraperitoneal de 0,5 ml. de sangue contaminado com bactérias psicrófilas.

	Identificação da cepa contaminante do sangue	Antibióticos — Estreptomicina — Letalidade 8hs	24hs	48hs	Kanamicina 8hs	24hs	48hs	Gabromicina 8hs	24hs	48hs	Controle (Sem antibiótico) 8hs	24hs	48hs
Pseudomonas	1919	0/16	0/16	0/16	1/16	1/16	3/16	0/16	0/16	0/16	1/16	1/16	3/16
	3192	0/16	6/16	12/16	8/16	12/16	15/16	6/16	7/16	8/16	15/16	16/16	16/16
	0010 (1)	0/16	12/16	16/16	8/16	15/16	16/16	13/16	15/16	15/16	16/16	16/16	16/16
	4436 (1)	0/16	9/16	16/16	15/16	15/16	16/16	6/16	13/16	13/16	15/16	16/16	16/16
	6504 (1)	8/16	14/16	16/16	13/16	14/16	16/16	6/16	14/16	16/16	16/16	16/16	16/16
	6679 (2)	0/16	6/16	11/16	1/16	12/16	12/16	0/16	8/16	12/16	3/16	16/16	16/16
	6785 (2)	0/16	0/16	0/16	4/16	9/16	11/16	1/16	3/16	3/16	0/16	6/16	8/16
	7076 (2)	0/16	16/16	16/16	15/16	15/16	16/16	15/16	15/16	16/16	16/16	16/16	16/16
	7583 (2)	0/16	0/16	16/16	9/16	10/16	12/16	6/16	7/16	10/16	11/16	11/16	13/16
	33960 (2)	0/16	0/16	0/16	14/16	15/16	16/16	12/16	13/16	15/16	16/16	16/16	16/16
	1910 (3)	1/16	1/16	1/16	7/16	11/16	13/16	0/16	0/16	0/16	0/16	4/16	6/16
	3863 (4)	0/16	1/16	2/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	1/16	2/16
Enterobacter.	1323 (5)	0/16	0/16	1/16	6/16	10/16	10/16	1/16	1/16	5/16	8/16	11/16	14/16
	1530 (5)	2/16	2/16	2/16	1/16	1/16	2/16	3/16	4/16	5/16	8/16	12/16	12/16
	1533 (5)	0/16	6/16	16/16	12/16	13/16	14/16	8/16	9/16	13/16	15/16	16/16	16/16
	6892 (5)	5/16	7/16	11/16	15/16	16/16	16/16	2/16	5/16	5/16	16/16	16/16	16/16
	7860 (5)	1/16	2/16	4/16	1/16	9/16	11/16	0/16	1/16	2/16	0/16	13/16	14/16
	4011 (6)	0/16	10/16	16/16	12/16	13/16	13/16	9/16	12/16	12/16	14/16	16/16	16/16
	4979 (6)	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16
	7582 (6)	1/16	1/16	1/16	1/16	2/16	2/16	1/16	3/16	3/16	4/16	6/16	9/16
Bacilus.	1044	0/16	0/16	3/16	0/16	2/16	5/16	1/16	2/16	4/16	0/16	2/16	6/16
	9223	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16
	9437	0/16	0/16	0/16	0/16	1/16	1/16	0/16	1/16	1/16	0/16	1/16	2/16
	33992	5/16	6/16	10/16	4/16	11/16	15/16	5/16	9/16	14/16	6/16	11/16	14/16
	Total Letalidade	23/384	99/384	170/384	147/384	207/384	235/384	95/384	142/384	172/384	180/384	263/384	239/384

Um grupo de 16 camundongos foi inoculado com sangue não contaminado não tendo sido observada nenhuma morte num período de 48 horas.

(1) *Pseudomonas Sp.* não correspodendo às características de *P. aeruginosa; P. fluorescens, P. putida; P. etutzeri; P. multivorans; P. maltophilia; P. pseudomallei.* — (2) *Pseudomonas Sp. similar, mas não identico a P. etutzeri.* — (3) *Pseudomonas multivorans.* — (4) *Pseudomonas fluorescens.* — (5) *Enterobacter liquefaciens.* — (6) *Enterobacter aerogenes.*


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15 16

Mem. Inst. Butantan
36: 51-56, 1972.

DETERMINAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO BACTERIANA EM SANGUE ESTOCADO ATRAVÉS DA DOSAGEM DE GLICOSE COM TIRA REAGENTE.

BRUNO SOERENSEN *, MARY EMI YOSHIO ** E MARILDA CASEMIRO DA ROCHA**

(Laboratório Clínico-Veterinário da Faculdade de Ciencias Médicas e Biológicas de Botucatu).

RESUMO — Os autores estudam a aplicabilidade de novo método para a determinação da contaminação bacteriana de sangue estocado colhido com solução A.C.D. e preservado a 4-6º O método consiste na dosagem de glicose com tira reagente, tomando como base que elevada porcentagem das bactérias que interessam a Banco de Sangue desdobram a glicose.

A glicólise observada foi a seguinte: 250 mg% de glicose no dia da colheita e 130 mg% após 20 dias de estocagem. Quanto às amostras de sangue contaminados propositalmente com 24 cepas isoladas de sangue estocado, após 15 a 20 dias de observação revelaram 83% dos sangues quantidade inferior a 130 mg% de glicose, portanto diante dos resultados, os valores inferiores a 130 mg% indicariam a possibilidade de contaminação e os valores compreendidos entre 130 e 250 mg% seriam devido a glicólise, independente de qualquer contaminação bacteriana.

Finalmente concluem que o método apresenta a vantagem de ser rápido e cômodo, mas deverá ser aplicado apenas quando as condições não permitam o auxílio do microscópio, portando, o consideram nos seus resultados como sendo inferior aos métodos de bacterioscopia pré-transfusonal.

UNITERMOS — Contaminação bacteriana em banco de sangue; Determinação da contaminação bacteriana em sangue estocado. Desdobramento de glicose por bactérias contaminantes de sangue estocado.

A frequência dos acidentes transfusionais fatais por sangue contaminado justifica o controle bacteriológico sistemático. Braude (1), examinando 1967 frascos encontrou 2,21% contaminados; entre nós, Russi (10) em 3.000 frascos de plasma examinados pela bacterioscopia pré-transfusional encontrou 3,3% de frascos suspeitos e Soerensen (11), pela bacterioscopia em lâmina corada pelo azul de metileno encontrou, em 2194 frascos examinados, 23 contaminados (1,0%).

Diversos métodos foram recomendados para a realização da bacterioscopia pré-transfusional. Assim a microscopia por contraste de fase foi indicada

* Diretor Substituto da Divisão de Microbiologia e Imunologia do Instituto Butantan e Professor das Disciplinas de Laboratório Clínico Veterinário e Higiene Veterinária e Saúde Pública da Faculdade de Ciencias Médicas e Biológicas de Botucatu.

** Alunas do 5.º ano do Curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Ciencias Médicas e Biológicas de Botucatu.

Endereço para correspondência:
C.P. 65, São Paulo, Brasil.



por Faria (4-5), Discombe e Meyer (3), a bacterioscopia em lâmina corada pelo azul de metileno e pelo método de Gram por Petzelt (8), sendo preconizada ainda por Soerensen (11) uma técnica para a execução da bacterioscopia pré-transfusional, conseguindo-se assèpticamente, do frasco, uma amostra de sangue, a feitura de esfregaço em lâmina com a própria agulha de punção e a coloração pelo azul de metileno.

Indubitavelmente, os métodos de bacterioscopia pré-transfusional quando executados por profissional capaz, são plenamente satisfatórios, porém existem condições que impedem que o sangue seja selecionado adequadamente para a transfusão, nos referimos especialmente aos casos em que não se dispõe de auxílio do microscópio.

Ainda os métodos culturais foram recomendados para controle de esterilidade de sangue e plasma (2-7-12), mas o consideramos pouco práticos e antieconômicos.

Grande número de bactérias que contaminam sangue estocado desdobram a glicose sendo este o fato que nos levou à realização do presente trabalho.

MATERIAL E MÉTODOS

Inicialmente afim de estudar a glicólise foram colhidos em separado amostras de sangue procedentes de 3 doadores (frascos A.C.D. Baxter com 3,30 g de glicose), sendo mantidos a 4-6.°C durante 20 dias.

A glicólise foi avaliada com tira reagente "Dextrostix", logo após a colheita e aos 20 dias de conservação, período este correspondente ao tempo máximo de estocagem recomendado para o uso de sangue integral. A técnica obedecida foi a seguinte: 1) Agitar o frasco com cuidado e retirar assepticamente uma pequena amostra de sangue. 2) Depositar o sangue sobre a tira de maneira a cobrir totalmente a área reagente. 3) Aguardar exatamente 60 segundos utilizando o ponteiro de segundos de um crônometro. 4) Lavar rapidamente o sangue da tira com um jato fino de água, usando um frasco de lavagem, tomando cuidado de evitar uma lavagem incompleta ou ainda a insistência em demasia na lavagem. 5) Ler o resultado imediatamente após a lavagem, comparando a área de prova com a tabela de cores. Quando a reação na tira corresponder exatamente a um dos blocos coloridos em referências, ler o valor diretamente ou se a cor obtida na tira for intermediária entre duas cores, interpolar o resultado ou indicar o valor como sendo dentro dos valores designados pelas duas cores.

Após a determinação da glicólise, procedemos a colheita de 500 ml. de sangue em solução A.C.D. e a seguir foi distribuido em 24 tubos esterilizados, 10 ml por tubo e contaminado propositadamente cada tubo com cepas bacterianas psicrófilas isoladas de sangue estocado, ficando um tubo como controle.

Os tubos foram conservados em geladeira (4-6°C) pelo período de 20 dias. Após 15 dias de conservação procedemos a dosagem de glicose com tira



reagente, sendo repetida após 20 dias. Nas duas oportunidades procedemos a bacterioscopia em lâminas coradas pelo azul de metileno e pelo método de Gram a fim de certificarmos do desenvolvimento bacteriano.

Determinamos o grau de toxidez dos sangues depois de ter transcorrido 20 dias de conservação, com a finalidade de relacionar com os resultados da dosagem de glicose. Para esta prova foi seguida a técnica empregada por Geller e Jawetz (6), inoculando 0,5 ml de sangue correspondente a cada cepa contaminante por via intraperitoneal em 10 camundongos Swiss machos pesando 12 a 18 g.

RESULTADOS

1) A determinação da glicólise das 3 amostras de sangue levaram aos seguintes resultados: logo após a colheita: 250 mg% e após 20 dias de estocagem foram encontrados valores compreendidos entre 130 e 150 mg%, independente de qualquer contaminação bacteriana.

2) Todos os sangues contaminados mostraram-se positivos pela bacterioscopia, coincidindo as características morfológicas e tintoriais com as das cepas contaminantes.

3) A determinação da glicose através da tira reagente e o grau de toxidez das amostras de sangue contaminados, assim como do sangue controle não contaminado podem ser avaliados pela observação da Tabela I.

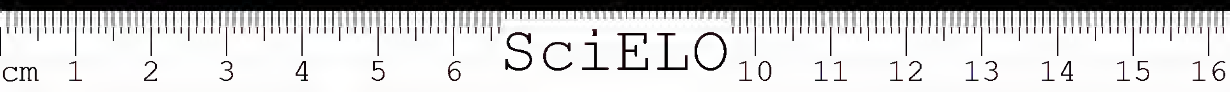
DISCUSSÃO

A glicólise de sangue citratado conservado a 4°C, conforme Rivera (9) pode ser observada no período compreendido entre o décimo e trigésimo dias podendo ser notada diferenças apreciáveis entre as amostras de sangue. O mesmo autor referindo-se a sangue estocado em soluções estabilizadoras contendo glicose afirma que a glicólise é intensificada.

Os nossos resultados mostram que a glicólise que se processa, avaliada pela tira reagente é a partir de 250 mg% no dia da colheita do sangue, até 180 a /150 mg% após /20 dias de estocagem a 4-6°C.

Quanto à dosagem de glicose em sangue contaminados, verificamos que 20 sangues apresentaram taxas de glicose inferiores a 130 mg%, coincidindo com a capacidade de desdobramento da glicose pela cepa contaminante correspondente ao sangue.

A prova de toxidez das diferentes amostras de sangue contaminado, realizada em camundongo, demonstrou ainda que a maioria das cepas são toxígenas, coincidindo de certa maneira com a capacidade de desdobramento da glicose.



CONCLUSÃO

1) O sangue conservado a 4-6° C colhido em solução A. C. D. sofre uma glicólise que avaliada através de tira reagente se encontra compreendida entre 250 mg% no dia da colheita do sangue e 130 a 150 mg% após 20 dias de estocagem.

2) Aproximadamente 83% (20 amostras) dos sangues contaminados revelou quantidade inferior a 130 mg% de glicose, podendo ser detectado através da dosagem de glicose com tira reagente. Os valores compreendidos entre 130 e 250 mg% seriam devido a glicólise independente de qualquer contaminação bacteriana, portanto quando a quantidade de glicose for inferior a 130 mg%, poderá indicar uma contaminação bacteriana.

3) Finalmente, o método apresenta a vantagem de ser rápido e cômodo, mas deverá ser aplicado apenas quando as condições não permitiam o auxílio de microscópio, portanto o consideramos nos seus resultados como sendo inferior aos métodos de bacterioscopia pré-transfusional.

SUMMARY — The authors study the applicability of a new method for the determination of bacterial contamination of a stored blood, harvested with an A.C.D. solution, and preserved at 4-6°C. The method consists of the dosage of glucose by the aid of a reagent strip (band), based on the fact that the high percentage of bacteria, which is of interest to the Blood Bank, unfolds glucose.

The observed glycolysis is the following: 250 mg% of glucose at the day of harvesting, and 130 to 150 mg% after 20 days of storage. As to the blood samples, deliberately contaminated with 24 strains isolated from stored blood, after 15 to 20 days of observation, 83% of the samples revealed less than 130 mg% of glucose. In view of these results, therefore, the values lower than 130 mg% indicate a possibility of contamination, while the values between 130 and 250 mg% would be due to glycolysis, independent of any bacterial contamination.

The authors conclude that this method presents the advantage of being rapid and easy, that it should, however, be applied only when the conditions do not permit the use of a microscope. Judged by the results it is, therefore, considered inferior to the pretransfusional bacterioscopy methods.

UNITERMS — Bacterial contamination in a blood bank. Determination of the bacterial contamination in stored blood. Breaking of glucose by bacteria contaminants of stored blood.

SOERENSEN, B., YOSHIO, M. E. e ROCHA, M. C. — Determinação da contaminação bacteriana em sangue estocado através da dosagem de glicose com tira reagente. *Mem. Inst. Butantan*, 36: 51-56, 1972.

TABELA I

Determinação da glicose através da tira reagente e do grau de toxidez das amostras de sangue contaminados.

	Identificação da cepa contaminante do sangue	Dosagem de glicose com tira reagente	Inoculação Experimental do sangue em grupos de 10 camundongos
Pseudomonas	1919	< 40 mg%	Mortos em 8 horas
	3192	< 40 mg%	Mortos em 8 horas
	0010 (1)	= 40 mg%	Mortos em 8 horas
	4436 (1)	± 90 mg%	Mortos em 8 horas
	6504 (1)	< 40 mg%	Mortos em 8 horas
	6679 (2)	< 40 mg%	Mortos em 8 horas
	6785 (2)	< 40 mg%	Mortos em 8 horas
	7076 (2)	< 40 mg%	Mortos em 8 horas
	7583 (2)	< 40 mg%	Mortos em 8 horas
	33960 (2)	< 40 mg%	Mortos em 8 horas
	1910 (3)	< 40 mg%	Mortos em 8 horas
	3863 (4)	±170 mg%	Mortos em 8 horas
Enterobacter	1323 (5)	< 40 mg%	Mortos em 8 horas
	1530 (5)	< 40 mg%	Mortos em 8 horas
	1533 (5)	< 40 mg%	Mortos em 8 horas
	6892 (5)	< 40 mg%	Mortos em 8 horas
	7860 (5)	< 40 mg%	Mortos em 8 horas
	4011 (6)	< 40 mg%	Mortos em 8 horas
	4979 (6)	< 40 mg%	Mortos em 8 horas
	7582 (6)	< 40 mg%	Mortos em 1 hora
Bacilus	1044	>250 mg%	Vivos após 48 horas
	9223	>250 mg%	Vivos após 48 horas
	9437	±100 mg%	Mortos em 8 horas
	33992	>250 mg%	Vivos após 48 horas
Sangue não contaminado (Contrôle)		>250 mg%	Vivos após 48 horas

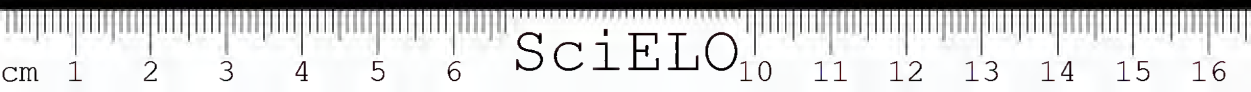
(1) *Pseudomonas, Sp* não correspondendo as características de *P. aeruginosa; P. fluorescens; P. putida; P. stutzeri; P. multivorans; P. maltophilia; P. pseudomallei.* (2) *Pseudomonas* Sp. similar, mas, não idêntica à *P. stutzeri.* (3) *Pseudomonas multivorans* (4) *Pseudomonas fluorescens.* (5) *Enterobacter liquefaciens.* (6) *Enterobacter aerogenes.*

BIBLIOGRAFIA

1. BRAUDE, A. I.; SANFORD, J. P.; BARTLETT, J. E. and MALLERY. O. T. Effects and clinical significance of bacterial contaminants in transfused blood. — *J. Lab. Clin. Med.*, **39**: 902-916, 1952.
2. CUBONI, E. — Controllo della sterilità dei tubi per transfusione. — *Boll. Ist. Sieroter. Milan*, **41**: 340-353, 1962.
3. DISCOMBE, G.; MEYER, H. — Zur frage der bakteriologischen Kontrol von blutkonserven — *Deuts. Med. Wschr.* **79**: 891-892, 1954.
4. FARIA, R. — Aspectos microbiológicos na hemoterapia — *Rev. Clin de São Paulo*, **33**: 6-20,1957.
5. FARIA, R. — A bacterioscopia direta pré-transfusional e sua importância clínica — *Arq. Biol.* **44** (330): 89-98, 1960.
6. *GELLER, P.* and *JAWETZ, E.* — Experimental studies on bacterial contamination of bank blood. — *Jour. Lab. Clin.* 43 (5): 696-706, 1954.
7. LOGAN, W. R. — Note on the testing of transfusion fluids for contamination — *Brit. M. J.* **1**: 854, 1941.
8. PETZELT, K. — Zur Vermeidung von transfusionsschaden bei verwendung von blutk*onserven* — *Deuts. Med. Wschr.* **78**: 1505-1506, 1963.
9. RIVERA, B. J. — Transfusion de sangre — Editorial Marban. Nuevas Gráficas S/A — pag. 329, Madrid, 1967.
10. RUSSI, A. A. CIT. FARIA, R. — A bacterioscopia direta pré-transfusional e sua importância clínica. — *Arq. Biol.*, 44(330): 89-98, 1960.
11. SOERENSEN, B. — A bacterioscopia pré-transfusional em lâmina corada pelo azul de metileno. Técnica para a sua execução. — *Rev. Bras. Cir.* (Boletim Oncologia), **50**(4): 245-249, 1965.
12. WALTER, C. W.; Kundsin, R. B. and BULTON, L.N. — New technic for detection of bacterial contamination in a blood bank using plastic equipment. *New. Engl. J. Med.* **257**: 364-369, 1957.

Recebido para publicação em 30 julho/72

Aceito para publicação em 6 set./72



Mem. Inst. Butantan
36: 57-66, 1972.

AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA COMPARATIVA DA INTENSIDADE DO FENÔMENO PROLIFERATIVO NA IMUNIDADE CELULAR À TUBERCULOSE EM COBAIOS VACINADOS ORALMENTE E INTRA-DERMICAMENTE PELO BCG.

JESUS CARLOS MACHADO; BRUNO SOERENSEN; JANDYRA PLANET DO AMARAL; EVANI APARECIDA PINTO e NIDIA DE DONOSO.

Seção de Anatomia Patológica e Seção de Bacteriologia do Instituto Butantan

RESUMO — Os autores estudaram a intensidade da reação imunológica celular à tuberculose, comparativamente em dois grupos de cobaias que foram vacinadas pelo BCG por via intra-dérmica e via oral. Após a infecção experimental por via oral destes grupos e mais um controle, os autores estudaram os seguintes órgãos: pulmão, gânglios linfáticos do mediastino, baço e fígado.

A avaliação da intensidade da reação imunológica celular foi feita levando-se em conta as áreas que apresentavam esse tipo de reação, dentro da área total do corte histológico, procedendo-se a elaboração de um gráfico com mensuração planimétrica.

Os autores verificaram que dos órgãos estudados, as reações imunológicas foram mais intensas no pulmão dos 3 grupos e foi sempre observado maior área de reação imunológica celular nos órgãos dos animais previamente vacinados por via intradérmica. Isto sugere ser a via intradérmica de vacinação a mais eficiente no sentido de provocar maior intensidade de reação imunológica celular à tuberculose.

UNITERMOS — Imunopatologia da tuberculose. Vacinação pelo BCG

INTRODUÇÃO

Se não existem dúvidas no que diz respeito à eficácia da vacinação oral pelo BCG, conforme atesta recente avaliação de GERNEZ-RIEUX, GERVOIS e NISTRI (2) ao estudarem a incidência comparativa de dois grupos humanos da cidade de Roubaix (França) — cuja vacinação tinha sido feita por Calmette — onde encontraram 50% menos de casos de tuberculoses ativa nos vacinados do que nos não vacinados, a mesma certeza não subsiste quando desejamos avaliar a proteção ministrada pela vacinação oral em comparação com a intradérmica.

Seria extremamente interessante se pudéssemos avaliar experimentalmente de algum modo, a intensidade da reação provocada pela vacina protetora — BCG no caso — quando administrada por duas vias diferentes, ou seja a intradérmica e a oral. E isso teria significado utilíssimo porque o Brasil é dos poucos países que fazem a prevenção da tuberculose humana pela vacinação

Trabalho realizado com o auxílio do F.E.D.I.B.

Endereço para correspondência:
C.P. 65, São Paulo, Brasil.



oral pelo BCG. Quando sabemos das extremas dificuldades que existem para critérios seguros da avaliação estatística dessa proteção em grupos humanos selecionados em nosso país, podemos bem compreender da extrema utilidade de tal trabalho experimental.

Em continuação a estudos desenvolvidos nesse sentido por dois autores (B. Soerensen e J. P. Amaral (6)) do presente trabalho, procurou-se neste analisar histologicamente a intensidade das reações proliferativas, ocorridas na imunidade celular contra a tuberculose experimental em cobaios previamente vacinados pelo BCG por via oral e intradérmica.

Estudos quantitativos das reações imunológicas celulares ao bacilo de Koch já foram realizados tanto macro como microscopicamente. Assim, Lorian e Zanon em 1964 (5) para estudar comparativamente as lesões pulmonares na tuberculose experimental, estabeleceram como critério tres graus de comprometimento a saber:

1 — Poucos tubérculos (menos de 10, independente da localização), 2 — Muitos tubérculos (mais de 10, até tubérculos confluentes); 3 — caseificação (pelo menos uma parte caseificada, com volume de uma esfera de 5 mm).

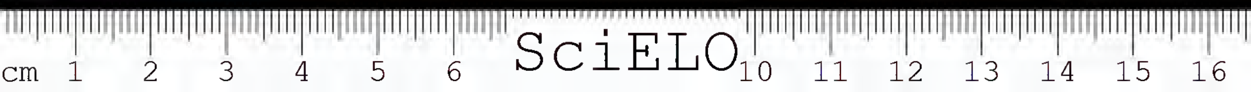
Ionesco e Eskenay, 1970 (3) utilizaram para estudo comparativo das lesões tuberculosas o método planimétrico que consistia na projeção sobre papel milimetrado de cortes histológicos onde se pode calcular a superfície total do órgão e as áreas comprometidas fazendo um levantamento porcentual da superfície comprometida. No nosso trabalho achamos conveniente elaborar uma avaliação microscópica da área com os fenômenos imunológicos presentes em relação com o normal, seguida de gráfico com avaliação planimétrica do mesmo. Analisamos comparativamente os tres grupos estudados ou seja um grupo previamente vacinado por via oral, outro por via intradérmica e finalmente um controle.

MATERIAL E MÉTODOS

Os animais escolhidos para a experimentação foram cobaias, as quais como é sabido, independentes do sexo, apresentam grande susceptibilidade ao bacilo da tuberculose.

Foram utilizados 132 animais com aproximadamente 1 ano de idade, inoculados com 2 mg de bacilos virulentos da tuberculose da linhagem H37Rv. A inoculação foi feita por via traqueal por ser a via normal de contágio. Desta amostra, 51 animais foram vacinados com 100 mg de BCG por via oral, outros 53 animais foram vacinados com 0,1 mg de BCG por via intradérmica, sendo que em todos os lotes a inoculação dos bacilos virulentos foi feita 45 dias após a vacinação. As 28 cobaias restantes foram utilizadas como grupo controle.

Dos animais que morreram e dos sacrificados foram retirados os órgãos: pulmão, coração, baço, fígado, rim, supra-renal e os gânglios linfáticos do mediastino. O material foi fixado em formol a 10% e posteriormente foram feitos cortes histológicos sendo usado como rotina a coloração pela hematoxilina e eosina (H. E.).



MACHADO, J. C., SOERENSEN, B., AMARAL, J. P., PINTO, E. A. e DONOSO, N. — Avaliação histopatológica comparativa da intensidade do fenômeno proliferativo na imunidade celular à tuberculose em cobaios vacinados oralmente e intradermicamente pelo BCG. *Mem. Inst. Butantan, 36*: 57-66, 1972.

Nos cortes histológicos, em número aproximado de 1.800 foram analisadas a presença e intensidade da reação imunológica celular no conjunto e isoladamente (infiltrado de células epitelióides e linfocitárias; tubérculos completos e incompletos, necrose de caseificação, calcificação e fibrose). A avaliação da intensidade foi feita pelo levantamento da área alterada em relação com a área normal.

A intensidade de reação imunológica celular foi classificar com sinais positivos (+) que variavam de um (+) a quatro (++++). O sinal um (+) foto 1 correspondia a uma reação imunológica celular que ocupava 25% ou menos da área total do corte histológico; o sinal dois (++) foto 2 correspondia a uma variação de 26% a 50%; sinal 3 (+++) foto 3 correspondia de 51% a 75% e o sinal quatro (++++) foto 4 correspondia a 76% ou mais da área.

Com os resultados desta classificação foram elaboradas tabelas e gráficos levando-se em conta a área reacional.

Baseado no fato de serem os órgãos; pulmão, gânglios linfáticos do mediastino, baço e fígado mais habitualmente comprometidos pelo bacilo da tuberculose, foi a ele dedicada maior atenção neste trabalho.

Nos gráficos, por meio de planímetro, foram medidas as áreas de reação imunológica celular relacionadas com os 2 tipos de vacinação e controle, nos 4 órgãos acima referidos, e os valores dessas áreas estão expressos em um gráfico de barras.

RESULTADOS

Os gráficos elaborados apresentam comparativamente os valores das áreas com a reação imunológica celular presente, relacionando os animais vacinados por via oral, via intradérmica e controle. Verificamos uma área de reação sempre maior para os animais vacinados por via intradérmica, sendo que esta diferença varia segundo o órgão considerado.

Na fig. 1 onde são apresentadas as curvas referentes as áreas de reação imunológica celular no baço para os tres grupos de animais, verificamos que a curva correspondente ao grupo de animais vacinados por via intradérmica é aproximadamente 115% (2,15 vezes) maior que para os vacinados por via oral (fig. 5). Entre os do grupo controle e os vacinados por via oral não foi verificada diferença significativa (fig. 5).

Em relação ao pulmão, analizando os dados da fig. 2, observamos também uma maior área de reação imunológica celular para os animais vacinados por via intradérmica, sendo esta área cerca de 27% (1,27 vezes) maior que a verificada para o grupo da via oral. A área relativa ao grupo da via oral é 20% (1,2 vezes) maior que a do grupo controle (fig. 5).

O mediastino (fig. 3) apresentou resultados semelhantes, sendo que a área da reação imunológica celular dos vacinados intradermicamente é 13% (1,13



vezes) maior que para os vacinados oralmente, e este último tem área 45% (1,45 vezes) maior que a dos animais do grupo controle (fig. 5).

No fígado (fig. 4), onde a intensidade da reação imunológica celular se apresentou diminuida, em relação aos três órgãos já mencionados, novamente foi observada ser a área de resposta referente aos animais vacinados por via intradérmica maior, cerca de 12% (1,12 vezes), que a apresentada pelos vacinados por via oral. O grupo dos animais vacinados oralmente apresentou uma área de resposta 33% (1,33 vezes) maior que a do grupo controle (fig. 5).

Observando-se os valores das áreas de reação imunológica celular, nos tres grupos de animais, concomitantemente apresentados para os 4 órgãos na fig. 5, podemos verificar que sempre ocorreu uma maior área dessa reação imunológica celular para os animais vacinados por via intradérmica em relação aos vacinados oralmente e o grupo controle.

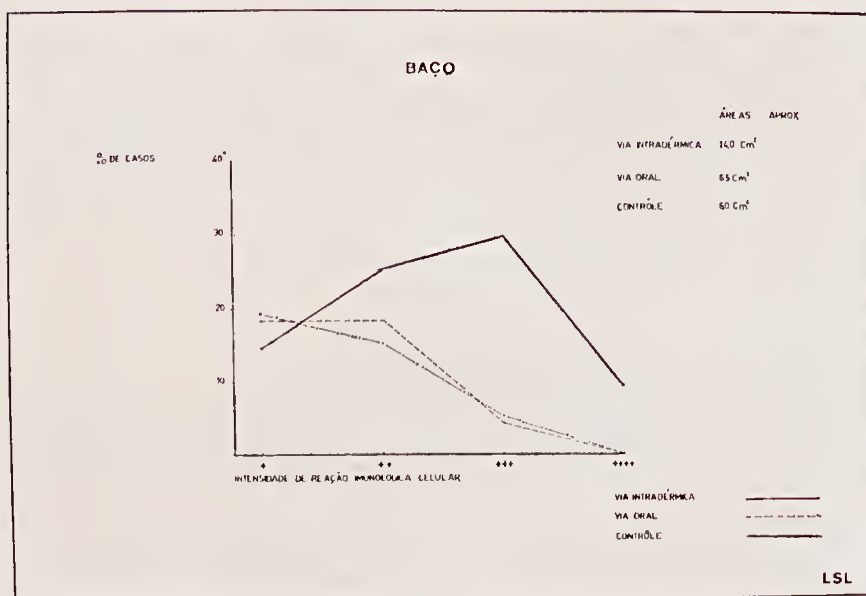


Fig. 1. Avaliação planimétrica da intensidade da reação imunológica celular no baço.

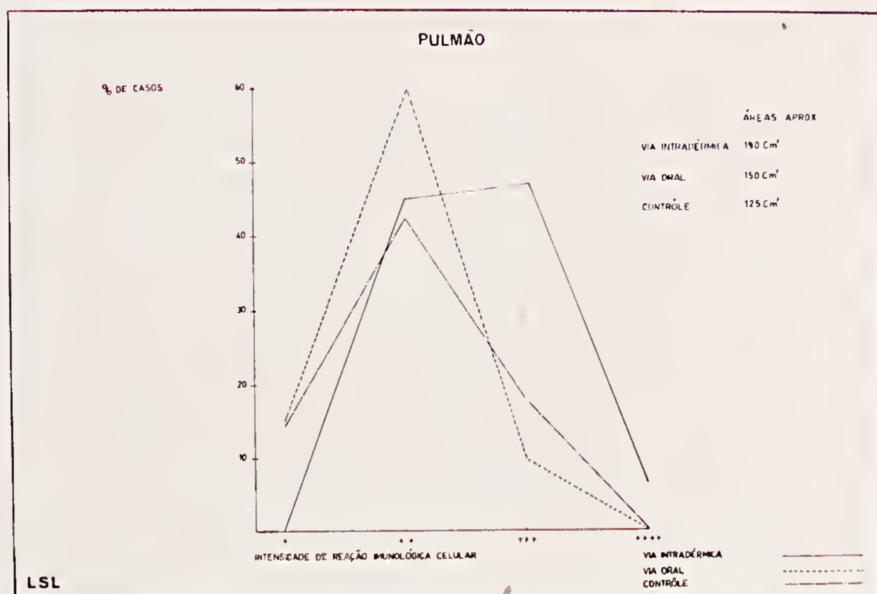


Fig. 2. Avaliação planimétrica da intensidade da reação imunológica celular no pulmão.

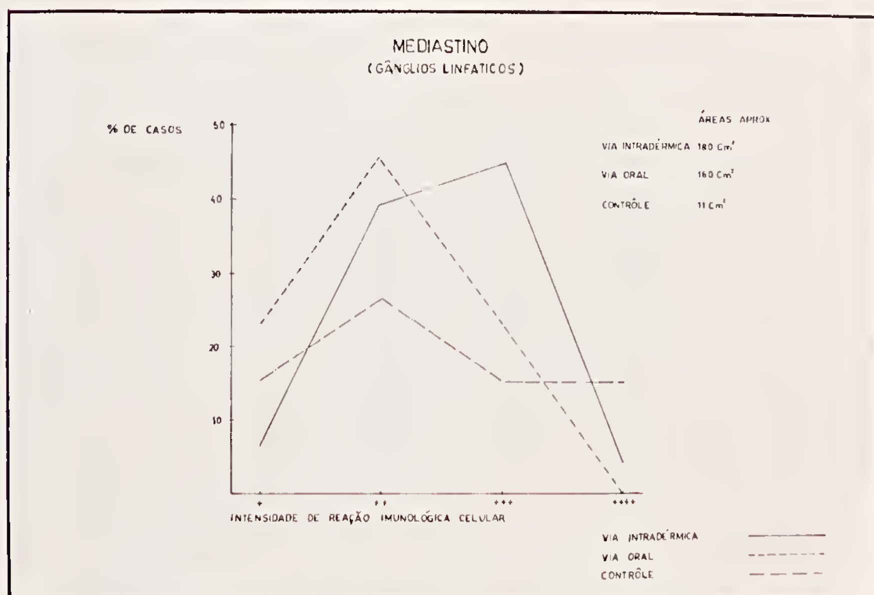


Fig. 3. Avaliação planimétrica da intensidade da reação imunológica celular nos gânglios linfáticos do mediastino.

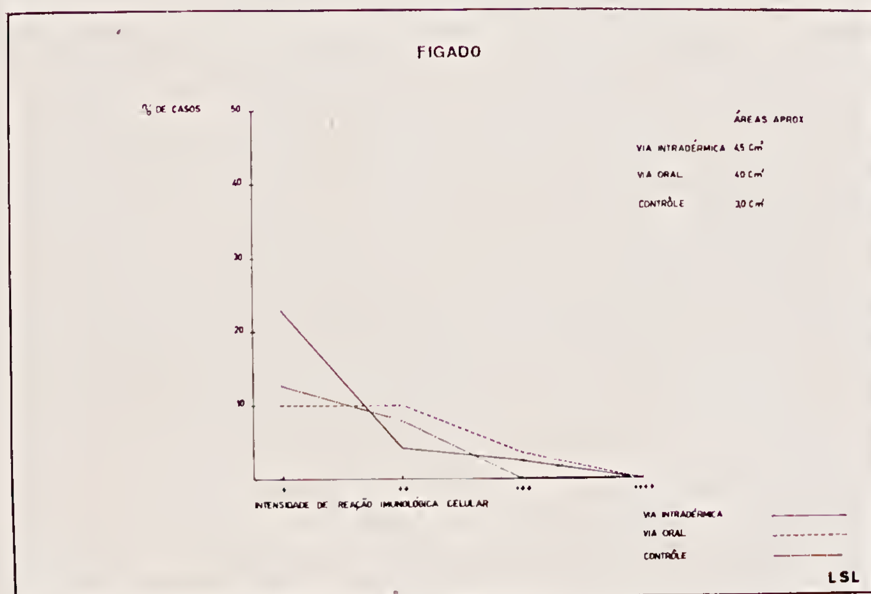


Fig. 4. Avaliação planimétrica da intensidade da reação imunológica celular no fígado.

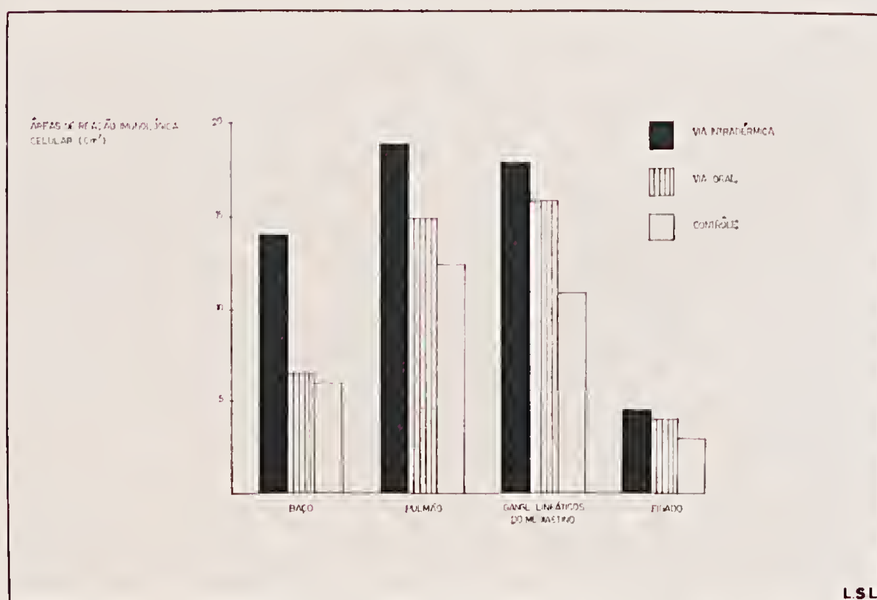


Fig. 5. Gráfico comparativo das áreas da resposta imunológica celular.



Foto 1: Pulmão — corte histológico — HE.
† A reação imunológica celular ocupa menos que 25% da área parenquimatosa



Foto 2: Pulmão — Corte histológico — H.E.
†† A reação imunológica celular ocupa entre 26 a 50% da área parenquimatosa.

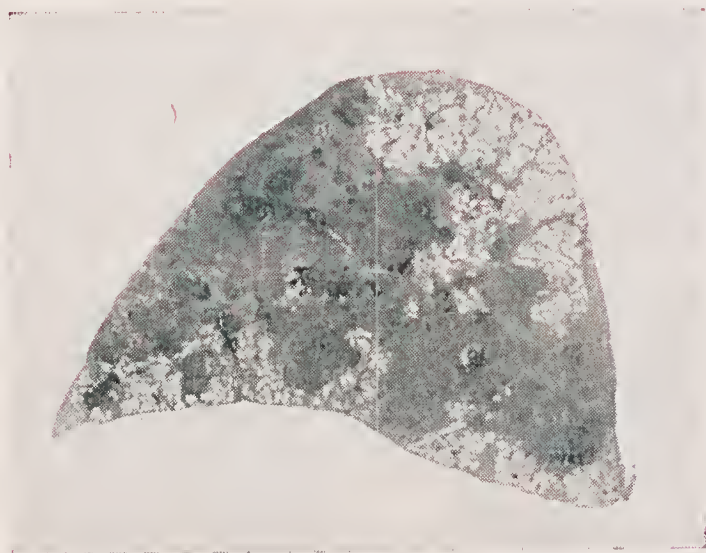


Foto 3: Pulmão — Corte histológico — H.E.
††† A reação imunológica celular ocupa entre 51 a 75% da área parenquimatosa.

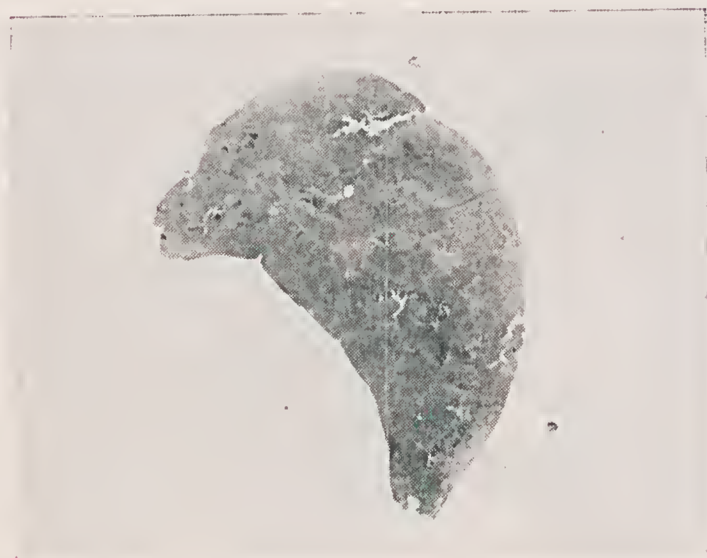


Foto 4: Pulmão — Corte histológico — H.E.
†††† A reação imunológica celular ocupa mais de 76% da área parenquimatosa.

DISCUSSÃO

As vacinações por via oral de BCG em grupos humanos protegem significativamente as populações vacinadas, conforme relatam os trabalhos de GERNEZ-RIEUX, GERVOIS e NISTRI (2). Experimentalmente, pelos trabalhos de IZUMI e COSTELLO (4) em camundongos suiços albinos, observou-se que diferentes vias de administração (intraperitoneal, intravenosa e aerosol) de BCG também tem ação protetora. No entanto, a intensidade dessa proteção varia segundo Costello e Izumi (1). Assim da mesma forma admitimos que as reações imunológicas celulares possam ser diferentes em intensidade segundo a via de administração do BCG seja oral ou intradérmica, mantidas constantes as demais variáveis, como sejam a quantidade de bacilos do BCG e os bacilos virulentos posteriormente introduzidos nos animais de experimentação.

No presente trabalho notamos que dos órgãos estudados pela ordem, o pulmão, gânglios linfáticos do mediastino, baço e fígado foram os que apresentaram reações imunológicas celulares mais intensas. Como a reação imunológica celular depende da presença de bacilos, a sua maior intensidade, decorre da maior presença numérica dos mesmos nesses órgãos, conforme assinalam Izumi e Costello. Nos nossos casos como vemos pela figura (5), realmente as reações imunológicas foram mais intensas no pulmão, como seria de esperar, nos três grupos estudados. Dentre eles a maior intensidade foi no grupo vacinado intra-dermicamente. Da mesma forma a reação imunológica celular foi mais intensa no grupo dos vacinados intra-dermicamente nos gânglios linfáticos do mediastino, baço e fígado.

CONCLUSÃO

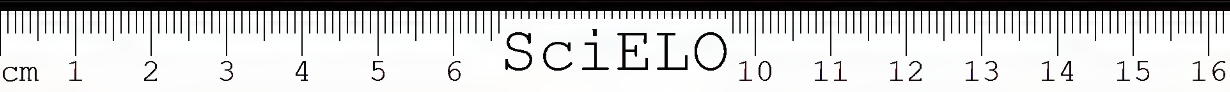
Pelos nossos resultados, cremos poder afirmar que a reação imunológica celular protetora contra o Bacilo da Tuberculose avaliado histologicamente é mais intensa, nas cobaias, quando a vacinação pelo BCG é realizada pela via intra-dérmica.

SUMMARY — The authors study the intensity of the cellular immunological reaction to tuberculosis in two groups of guinea pigs, one group having been vaccinated with BCG intradermally, the other orally. After the experimental infection by the oral route, and in the control group, the authors studied the following organs: lungs, mediastinal lymph nodes, spleen and liver.

The evaluation of the intensity of the cellular immunological reaction was accomplished taking into consideration the areas that exhibit this type of reaction with the total area of the histological section and proceeding to plot this graphically.

The authors verified that, in the organs studied, the immunological reactions were more intense in the lungs of the three groups and it was always observed that the greatest area of cellular immunological reaction occurred in the organs of those animals previously vaccinated intradermally. This suggests the intradermal route of vaccination is the more efficient in the sense of provoking the more intense cellular immunological reaction to tuberculosis.

UNITERMS — Immunopathology of tuberculosis. BCG vacination.



MACHADO, J. C., SOERENSEN, B., AMARAL, J. P., PINTO, E. A. e DONOSO, N. — Avaliação histopatológica comparativa da intensidade do fenômeno proliferativo na imunidade celular à tuberculose em cobaios vacinados oralmente e intradermicamente pelo BCG. *Mem. Inst. Butantan, 36*: 57-66, 1972.

BIBLIOGRAFIA

1. COSTELLO, R. and IZUMI, T. — Measurement of resistance to experimental tuberculosis in albino miee. *J. Exp. Med.* 133 (2): 362 — 375, 1971.

2. GERNEZ-RIEUX, CH., M. GERVOIS ET R. NISTRI — Résultats éloignés des premières vaceinations anti-tuberculeuses (BCG) d'Albert Calmette effeetuécs a Roubaix, de 1925 a 1934. *Ann. de l'Inst. Pasteur de Lile*: 10: 89196, 1958/59.

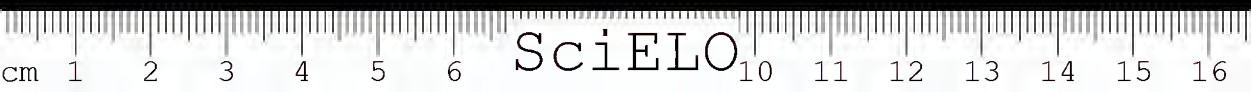
3. IONESCO, J. et ESKENASY, A.; Influcnce des voies d'administration du vaccin BCG sur la dynamique de l'inflammation tubereuleuses expérimentale. *Rev. d'Immun.* 34: (1-2) 1-10 1970.

4. IZUMI, T. and R. COSTELLO: Temporal development of resistance to pulmonary tuberculosis in Swiss albino mice. *J. Exp. Med.* 133 (2): 376-388 (1971).

5. LORIAN, V. and U. ZANON — Pulmonary tubcreulosis in Guines Pigs by trans-trachcal inoeulation. *Acta tubcrculoses et Pneumologica Scandinavioa* 44: 76-82, 1964.

6. SOERENSEN, B., e PLANET DO AMARAL, J. — Estudo eomparativo de neeróp-sias em eobaios tuberculosos e eobaios tubereulosos previamente vaeinados eom B.C.G. por via oral. *"O Hospital"*, 65 (2) 287-292 (1964).

Recebido para publicação em : 15/10/72
Aeeito para publicação em: 23/10/72



Mem. Inst. Butantan
36: 67-72, 1972.

CICLO SEXUAL BIENAL DE SERPENTES *CROTALUS* DO BRASIL – COMPROVAÇÃO*

FRANCISCO GARCIA DE LANGLADA

Laboratorio de Anatomia Patologica — Instituto Butantan

RESUMO — Atendendo às indicações de trabalhos anteriores que pareciam mostrar que o ciclo reprodutivo das "cascavéis" brasileiras deveria ser bienal, o autor observa serpentes fêmeas do gênero *Crotalus* em ambiente de liberdade controlada, pelo espaço de quatro anos.

Durante esse período de tempo verificou-se 100% de prenhez e partos, em anos alternados.

Estas observações, mais os resultados de seus trabalhos anteriores, permitem afirmar que o ciclo da serpente *Crotalus* do Brasil, é bienal.

UNITERMOS — Ciclo sexual bienal de serpentes *Crotalus*.

INTRODUÇÃO

Interessados que estamos a longo tempo no fenômeno reprodutivo das serpentes venenosas brasileiras, como fato de extrema importância nos nossos estudos sobre inseminação artificial de serpentes, que vimos estudando e, não encontrando dados concretos na literatura consultada que permitisse saber ao certo o espaço entre os ciclos sexuais, reunimos uma série de observações, fruto de nossa pesquisa, que nos permite ter uma opinião própria, a respeito do ciclo das "cascavéis" brasileiras.

Vainio (1931) relatou um ciclo bienal em *V. berus* da Finlândia.

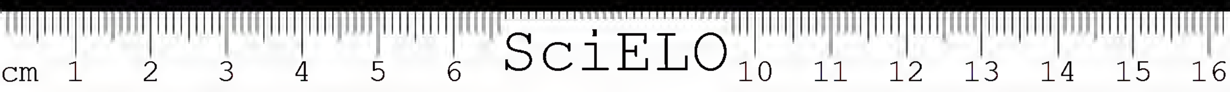
Klauber (1936) estudando *C. viridis* numa altitude de 4800 pés em Platteville, Colorado, concluiu que as serpentes reproduziam-se anualmente porque quase todas as grandes fêmeas continham folículos com vitelo.

Rahn (1942) estudou 64 fêmeas de *Crotalus viridis* coletadas em Wyoming no inverno. Na amostra existiam duas classes: aquelas com pequenos folículos e aquelas com grandes folículos de vitelo. Espermatozóides foram encontrados no útero das serpentes do último grupo mas eram ausentes nas fêmeas com pequenos folículos e obviamente nas jovens. Rahn concluiu que a cascavel da pradaria, naquela altitude (5600 pés), tinha um ciclo reprodutivo bienal

Entretanto, Klauber (1956) diz: "Infelizmente, quando eu examinei a série de Platteville de cascavel de pradaria do Colorado, os achados de Rahn

* Com auxílio do F.E.D.I.B.
** Assistente da Seção de Anatomia Patológica do Inst. Butantan.

Endereço para correspondência:
C.P. 65, São Paulo, Brasil.



não tinham sido anunciados e por essa razão eu não diferenciei os ovos em duas categarias". Entretanto, é possível que tanto ciclos anuais como bienais ocorram em ligeiras diferenças de altitude. Se ocorrerem, há uma indicação que as serpentes são capazes de se reproduzir anualmente se as condições são favoráveis ou bianualmente, se não o são.

Klauber (1956) refere que pouco era conhecido sobre ciclos reprodutivos em cascavéis, embora tenha sido assumido que espécies sulinas reproduziam-se anualmente.

Volse, 1944, na Dinamarca, relata para *V. berus* um ciclo anual, o mesmo fazendo Smith em 1951, na Inglaterra.

Outros relatos indicam que ciclos reprodutivos bienais podem ser frequentes em serpentes.

Fich (1949) concluiu que *C. viridis oreganus* tinha um ciclo bienal, na Califórnia. Em 1960 ele sugeriu que a espécie *Agkistrodon contortrix* exibia um ciclo bienal no norte de Kansas.

Glissmeyer (1951) relatou que a cascavel *C. viridis lutosus* tinha um ciclo bienal em Tooele County, Utah, onde uma média de 49% de fêmeas maduras coletadas num longo período, estavam prenhes. O quadro, na amostra variou de 12,5 a 66,7% em diferentes anos.

St. Girons (1957) encontrou que um ciclo bienal, e possivelmente quadrienal, ocorria em *V. aspis*, sua duração sendo determinada primariamente pela temperatura com um ciclo anual no sul da França e um mais longo nas zonas de baixas isotermas. Ele concluiu que em climas mais frios um maior período era requerido para desenvolver suficientes reservas de gordura.

Naulleau, G. (9170) trabalhando com *V. aspis* encontra às vezes, 2 ciclos anuais.

Gibbons, J. W., 1972 — trabalhando com — *Crotalus horridus atricaudatus* do Sul da Carolina encontra ciclos bienais e até possivelmente trienais.

Durante a elaboração de nosso trabalho "Época de fecundação da serpente *CROTALUS* do Brasil" (Langlada e Gonçalves, 1971) comprovamos que dentre 1.200 fêmeas capturadas na natureza num período de 3 anos consecutivos, durante o período correspondente à gestação do gênero, 39% apresentavam-se prenhes.

No decorrer dos nosso trabalhos sobre estímulos hormonais do ciclo reprodutivo da serpente "cascavel" do Brasil vimos que, hormônios em doses iguais, proporcionais ao peso corporal do animal, com idênticos intervalos de administração, injetados pela mesma via e na mesma época do ano, não forneciam as mesmas respostas. Quarenta e tres por cento das fêmeas de "cascavél" induzidas artificialmente ao cio, por administração de hormônios, apresentavam macroscopicamente, hiperemia do ovário, enquanto que as demais não sofriam alterações.

Condições climáticas, as mais variadas, por nós provocadas artificialmente no "habitat" das serpentes, não conseguiam induzir ao ponto desejado do ciclo ovariano: a ovulação (momento do cio), nem mesmo quando associadas a

hormonoterapia específica. Todas estas considerações nos levaram a pensar ser bienal o ciclo ovariano dessas serpentes.

Como é impraticável a retirada periódica de material ovariano de uma mesma serpente, durante dois anos consecutivos, para estudos histológicos e como as dosagens hormonais que poderiam elucidar o ciclo astral são praticamente irrealizáveis, dado o desconhecimento do mecanismo endócrino da reprodução das serpentes, resolvemos estudar o seu comportamento reprodutivo, apenas por observação direta do animal.

Em observações anteriores, verificamos que o regime de cativeiro é altamente nocivo à reprodução de cascavéis e que, quando somamos a este cativeiro manuseios frequentes como retirada do animal da caixa, para a limpeza, troca de alimentação, pesagem, medição e essencialmente extração de veneno, a sobrevida média não excedia a 70 dias. Estas observações são confirmadas por trabalhos de Belluomini e col. (1966). Mesmo neste espaço de tempo, há uma sensível perda da agressividade, não há locomoção e é frequente o vômito, após a alimentação.

Sabíamos de experiências anteriores que a "falsa liberdade" por nos idealizada fornecia condições de vida capazes de permitir nosso estudo.

MATERIAL E MÉTODOS

Essa "falsa liberdade" consiste em espaço a céu aberto, cercado por paredes suficientes para dar proteção e segurança devidas, com chão de terra, no qual cresce a vegetação normal da região. Artificialmente, fazemos sobre a terra um córrego de profundidade não superior a 4 cms., que atravessa toda a área e termina num pequeno lago de aproximadamente 6 m^2, através do qual a água é drenada para o exterior.

Sobre os cantos vivos, parede-chão, colocamos tábuas de madeira de ± 2 m. de comprimento por 30 cms. de largura, que servem para dar proteção, em seu vão, às serpentes. Algumas telhas, espalhadas pela área, servem também como outros pontos de abrigo dos animais.

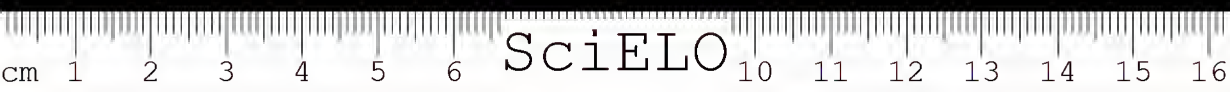
O espaço vital, por nós estabelecido, é de no máximo 4 serpentes por m^2.

Na "falsa liberdade" a alimentação é constante, isto é, procuramos manter, dia e noite, pequeno número de roedores vivos e soltos, à disposição das serpentes.

Nenhum manuseio desses animais é feito e nessa área, somente estreitos caminhos de passagem são abertos.

Nessas condições, os animais sobrevivem bem, alimentam-se, não vomitam, evacuam, mudam de pele, demarcam seu território. locomovem-se ficam agressivos (o que, a nosso ver, é uma prova de adaptação ao meio).

Estabelecemos para este estudo que seria necessário começar nossas observações, partindo de serpentes prenhes, já que não tínhamos outro ponto do ciclo sexual, mais fácil de se perceber. Assim observamos durante quatro



anos, 32 fêmeas provenientes dos arredores de S. Paulo, todas elas prenhes, após uma prévia aclimatação.

Junto a essas 32 fêmeas, colocamos 10 machos adultos da mesma espécie e os deixamos em sossego completo.

RESULTADOS

Após um período de 4 meses, começaram os partos. Entre o 4.º e 6.º mês de observação, as 32 fêmeas tinham parido normalmente. É curioso assinalar que não tivemos um só caso de presença de ôvo atrésico e não houve nenhuma morte das fêmeas mães, pós-parto.

Separamos as ninhadas e continuamos a observação. O número total de filhotes retirados foi de 312 vivos e 32 mortos.

No transcurso do 1.º ano, morreram 2 fêmeas.

Transcorrido um ano após os partos, não tínhamos observado cio, prenhezes ou partos de nenhum dos exemplares estudados. Decidimos, assim, prorrogar, por mais um ano, nossas observações.

No decorrer do 2.º ano, entre os meses de maio a setembro, houve acasalamentos espontâneos.

A partir do mes de novembro do 3.º ano de observação, iniciaram-se os partos, que vieram a terminar em 14 de março (30.ª fêmea).

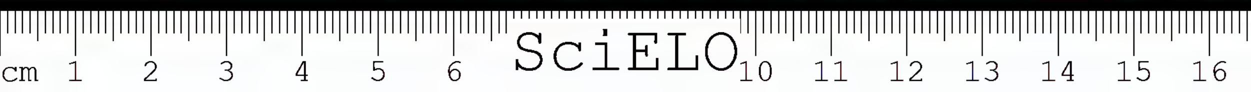
A sobrevida, tanto de machos como de fêmeas, tinha sido total. Durante toda a experiência machos e fêmeas tiveram mudas de pele perfeitas, as fêmeas 2 vezes por ano (maio-julho e novembro-dezembro) e os machos apenas uma (setembro-dezembro). Todas as trocas foram completas, saido a "camisa" inteira. As ninhadas deste 2.º grupo de partos das mesmas serpentes montavam a 412 exemplares vivos e 16 mortos. Durante o transcorrer do quarto ano não se observavam cios, prenhezes ou partos.

Datas precisas de partos, evolução do peso corporal, comprimento e outros dados individuais que, sem dúvida alguma, viriam melhor completar estas observações, foram prejudicados pela necessidade de se manter as condições de "falsa liberdade" já citadas e pela impossibilidade, até o momento, de conseguirmos técnica adequada para a identificação individual.

DISCUSSÃO

Das nossas observações podemos afirmar que o regime de "falsa liberdade" deu plena aclimatação às serpentes nele mantidas.

Tendo iniciado nossos trabalhos, partindo de serpentes prenhes, pudemos comprovar, que após os partos das mesmas, seguia-se um período de descan-



so sexual de dois anos, ao cabo dos quais as fêmeas tornavam a entrar em cio, ter cópulas e prenhezes normais, e com partos nas épocas adequadas, após os quais novo período bienal de repouso se dava.

Como quer que tanto os cios, como as prenhezes e partos se davam no mesmo rítmo, na totalidade dos exemplares observados e por espaço de 4 anos, concluimos afirmando ser bienal o ciclo sexual das serpentes do gênero *Crotalus* do Brasil.

SUMMARY — Previous works have indicated that the reproductive cycle of the Brazilian rattlesnake might be biennial. To verify this, the author observed females of the genus *Crotalus* in a controlled environment during a period of four years.

During this period it was verified that 100% of the pregnancies and deliveries occurred in alternate years.

These observations, with the results of previous works, cited in the text, permit affirmation that the reproductive cycle of the *Crotalus* snake of Brazil is biennial.

UNITERMS — Reproductive biennial cycle in serpents *Crotalus*.



BIBLIOGRAFIA

1. BELLUOMINI, H. E.; FRANCO DE MELLO, R.; PENHA, A. M. e SCHREIBER, G.; Estudo citológico e ponderal do testículo de *Crotalus durissus terrificus* durante o ciclo reprodutivo anual. *Mem. Inst. Butantan,* Simp. Intern. 33 (3) 761-766, 1966.

2. FICH, H. S. — Study of snake populations in central California. *Amer. Midl. Nat.* **41** (3): 513-579, 1949.

3. GIBBONS, J. W. — Rerproduction, Growth and sexual Dimorphism in the Canebrake Kattlesnake (*Crotalus horridus atricaudatus*). *Copeia,* 2, 222-226, 1972.

4. GLISSMEYER, H. R. — Egg production in the great basin rattlesnake. *Herpetologica* **7** (1) [24-25], 1951.

5. KLAUBER, L. M. — A statistical study of the rattlesnakes. III. Birth rate. *Occ. Papers San Diego Soc. Nat. Hist.*, **1**, 14-24, 1936.

6. KLAUBER, L. M. — The rattlesnakes. Vol. I. Univ. of Calif. Press, Bekerley, 1956.

7. LANGLADA, F. G. de, GONÇALVES, M. F. — Determinação da época de fecundidade em fêmeas do gênero *Crotalus. Arquivos do Museu Nacional,* **LIV**, 281-282, 1971.

8. NAULLEAU, G. — La réproduction de *Vipera aspis* en captivité dans desconditions artificielles — *Jour. of Herpetology,* 4 (3-4), 113-121, 1970.

9. RAHN, H. — The reproductive cycle of the prairie rattler. *Copeia* 2, 233-240, 1942.

10. ST. GIRONS, H. — Le cycle sexual chez *Vipera aspis* (L.) dans l'ouest de la France. *Bull. Biol. de la France et de la Belgique* 91 (3), 284-350, 1957.

11. VAINIO, I. — Zur verbreitung und biologie der kreuzotter, in *Finland. Ann. Soc. Zool. — Bot. Fenn.* 12, 1-19, 1931.

12. VOLSE, H. — Structure and seasonal variation of the male reproductive organs of *Vipera berus* (L.). *Spolia Zool. Munsei Haunensis* 5, 1-157, 1944.

Recebido para publicação em 30/6/72

Aceito para publicação em 28/9/72

Mem. Inst. Butantan
36: 73-78, 1972.

CONTRIBUIÇÃO A TÉCNICA OPERATÓRIA DE SERPENTES I *
HEMIPENICECTOMIA BILATERAL EM SERPENTES

FRANCISCO GARCIA DE LANGLADA**
HÉLIO E. BELLUOMINI***

Seção de Anatomia Patológica e Seção de Venenos — Instituto Butantan

RESUMO — Ante a necessidade de se determinar o momento no qual as serpentes fêmeas do gênero *Crotalus* estariam aptas a serem fecundadas artificialmente, os autores idealizaram técnica cirúrgica que visa converter em "rufiões" os machos do mesmo gênero. Os autores escolheram a ablação cirurgica dos hemipenis, em vez da castração, por não causar inibição da libido, ser de mais fácil realização e oferecer menores riscos cirúrgicos para o animal.

A técnica foi realizada em dez machos e os mesmos foram observados por espaço de um ano.

Os resultados objetivados tanto na técnica cirúrgica como na sua inocuidade além de transformações dos machos em "alertadores" foram plenamente conseguidos.

UNITERMOS — Hemipenicectomia bilateral em serpentes.

INTRODUÇÃO

No decorrer dos trabalhos de inseminação artificial de serpentes do gênero *Crotalus*, que vem sendo realizado atualmente na Seção de Anatomia Patológica do Instituto Butantan, idealizamos a presente técnica operatória que tem por finalidade praticar a hemipenicectomia bilateral em machos do gênero "*Crotalus*" com o fito de serem utilizados no reconhecimento do momento adequado de fecundação de fêmeas do mesmo gênero, visto não existir até o presente, método outro, capaz de, sem sacrifício da serpente, poder detectar a fase ovulatória da mesma.

MATERIAL E MÉTODO

Para a realização da técnica cirúrgica preconizada procedemos da seguinte forma:

* Trabalho realizado com auxílio do F.E.D.I.B.
** Assistente da Seção de Anat. Patológica do Instituto Butantan.
*** Diretor do Serviço de Animais Peçonhentos do Inst. Butantan.

Endereço para correspondência:
C.P. 65, São Paulo, Brasil.



a) *Contenção do animal*:

Firma-se a cabeça da serpente ao nível da borda posterior das primeiras vértebras cervicais entre os dedos polegar e indicador enquanto que os outros dedos da mesma mão fazem contenção do pescoço contra a palma; a outra mão do auxiliar abarca o corpo na altura dos rins. O animal assim contido é colocado sobre uma mesa em decubito dorsal e por medida de precaução imobiliza-se o maxilar inferior, fixando-o ao superior com uma tira de esparadrapo ou de material adesivo.

b) *Assepsia*:

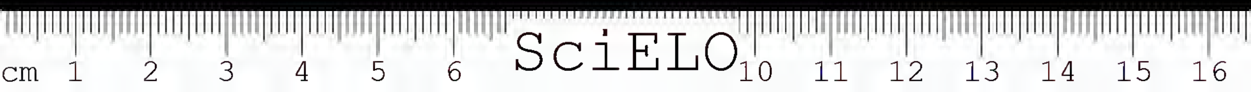
É feita rigorosamente com Mertiolate desde 10 cms. acima do orifício cloacal até o guizo inclusive, em toda circunferência do corpo.

c) *Exteriorização do hemipenis*:

Procede-se a uma pressão suave, moderada e deslizante, no sentido caudo-cranial, na face ventral da cauda do lado que se deseja exteriorizar o hemipenis, aparecendo este por desinvaginização. Pinçam-se ambas as extremidades do hemipenis com pinças de Kelly para mantê-las exteriorizadas ,procedendo-se a assepsia do hemipenis com Mertiolate.

d) *Técnica propriamente dita*:

Faz-se com o bisturi uma incisão circular, ao nível da raiz do hemipenis, que parte da borda lateral interna da mesma, seccionando-se apenas a camada externa. Com tesoura de ponta romba procuramos o feixe vascular situado atrás da canaleta seminal, individualizamos os vasos, ligamos em separado a artéria e as duas veias que o compõem. Em posição diametralmente oposta encontramos outro feixe vascular constituído também de uma artéria e duas veias, porém todos de menor calibre que o anterior; Figura n.º 1 e n.º 2. Fazemos a ligadura deste feixe também em separado. A seguir secciona-se com bisturi o tecido celular subcutâneo até atingir a cavidade onde se esconde o hemipenis quando retraído, expondo-se assim o músculo retrator do hemipenis. Tracionam-se as pinças que contém as duas extremidades do hemipenis permitindo visualizar e fixar a inserção caudal do músculo retrator, seccionando-se esta inserção o mais distalmente possível,, deixando o coto sem ligaduras ou outros cuidados especiais. Afrontamos o tecido celular subcutâneo e suturamos com pontos simples e separados usando categute 0000, montado em agulha atraumática. Na pele é feita sutura contínua com categute 000. O método é repetido para o outro hemipenis. Após a cirurgia passa-se novamente Mertiolato em toda ferida operatória. Não imobilizamos, não enfaixamos e não fizemos curativo nenhum. Não fizemos medicação pré ou pós operatória de qualquer natureza. A serpente retorna imediatamente ao seu "habitat" anterior. Não drenamos as feridas operatórias nem a cloaca, limitamo-nos a deixar



o animal em jejum 10 dias antes e 10 dias após a intervenção, permitindo apenas a ingestão de água.

Realizamos esta técnica em dez machos de "*Crotalus*" que foram observados durante um ano.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No pós operatório imediato não há alteração nenhuma na conduta habitual. Locomovem-se bem. Alimentam-se após os dias de jejum. Não houve dificuldade de evacuação em nenhum caso. Não tivemos hemorragia, deiscência de sutura ou infecções. A revisão cirúrgica efetuada após 30 dias em três dos machos operados mostrou cicatrização perfeita do coto da inserção muscular e dos diferentes planos de sutura, sem obliteração da luz dos canais receptores dos hemipenis e sem a presença de hematomas.

Após seis meses de cirurgia cada macho foi colocado em compartimento onde havia seis fêmeas. No momento oportuno acusaram a presença de fêmeas aptas a serem fecundadas provando assim que a hemipenicectomia não inibe a libido.

SUMMARY — In order to determine in female rattlesnakes the exact period of sexual receptivity for artificial insemination, the authors removed surgically both hemipenes of males of the same species, so that copulation but not fertilization coul be effectuated.

The authors have chosen surgical removal of both hemipenes instead of castration because it does not cause any inhibition of the sexual impulse, is easier to perform, and is less risky to the animal.

Ten males treated this way were observed for a period of one year.

Both objectives were achieved: the technical aspect was successful, and the male's transformation proved to be adequate to indicate female oestrus.

UNITERMS — Bilateral hemipenicectomy in serpents.

Recebido para publicação: 30/6/72

Aceito para publicação: 15/9/72



LANGLADA, F. G. e BELLUOMINI, H. E. — Contribuição a técnica operatória de serpentes I — hemipenicectomia bilateral em serpentes.
Mem. Inst. Butantan, 36: 73-78, 1972.

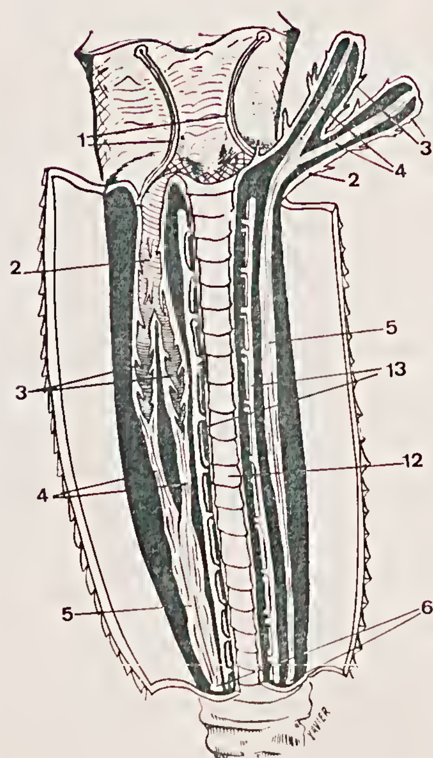


Figura n.º 1

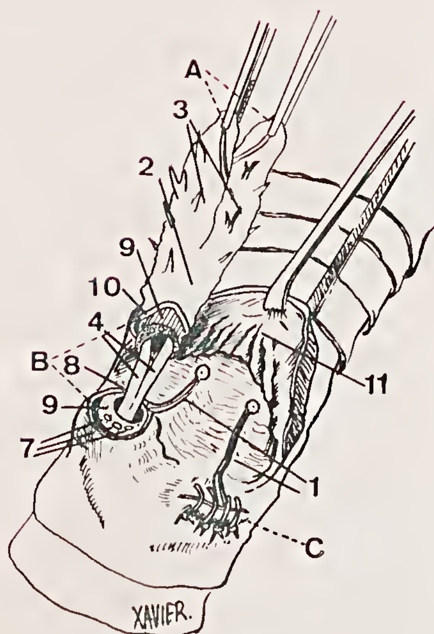


Figura n.º 2

Nomenclatura comum às figuras números 1 e 2: 1 — Sulco ou canaleta espermática. 2 — Corpo dos hemipenis. 3 — Ramos dos hemipenis. 4 — Músculo retrator individual de cada ramo do hemipenis. 5 — Músculo retrator maior dos hemipenis. 6 — Inserção caudal do mesmo músculo. 7 — Feixe vascular anterior no hemipenis. 8 — Feixe vascular posterior do hemipenis. 9 — Músculo subcutâneo do hemipenis. 10 — Pele do hemipenis. 11 — Antro da cloaca exposto por pinçamento e afastamento da escama cloacal. 12 — Vértebras do segmento caudal. 13 — Feixe vasculo-nervoso da cauda. A — Pinçamento dos ramos do hemipenis para tração. B — Incisão circular da raiz do hemipenis. C — Sutura após a ablação do hemipenis.

FIGURA N.º 1: Esquema da anatomia dos hemipenis e porção caudal da serpente *Crotalus* mostrando o hemipenis direito em sua posição normal ou de repouso e o esquerdo desinvaginado ou em posição ativa.

FIGURA N.º 2: Síntese da técnica da hemipenicectomia. A — Pinçamento dos extremos craniais dos dois segmentos do hemipenis. B — Seção circular de pele e camada muscular do subcutâneo, com feixes vasculares expostos. C — Sutura final após a retirada do hemipenis.

LANGLADA, F. G. e BELLUOMINI, H. E. — Contribuição a técnica operatória de serpentes I — hemipeniceectomia bilateral em serpentes.
Mem. Inst. Butantan, 36: 73-78, 1972.

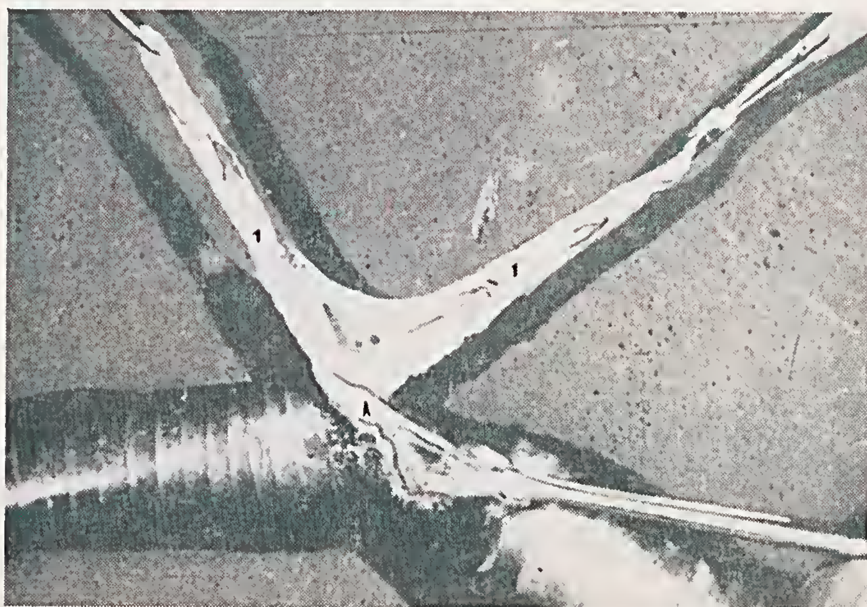


Fig. 3: Fotografia do hemipenis direito desinvaginado, vendo-se: 1. Ramos do hemipenis; A. Base do hemipenis.

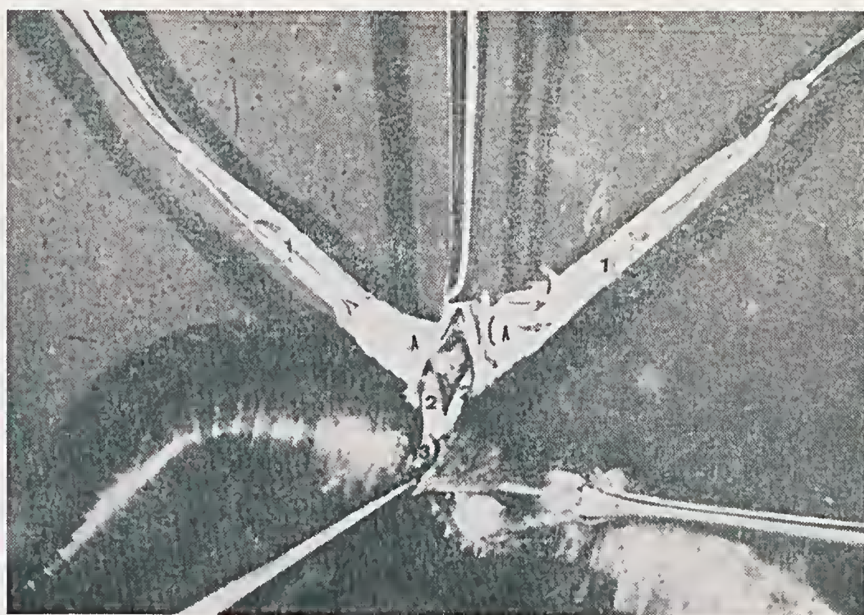


Fig. 4: Fotografia mostrando: 1 — Ramos do hemipenis direito; 2 — Ramos do músculo retrator do hemipenis; 3 — Músculo retrator do hemipenis; A — Base do hemipenis; B — Porção da base do hemipenis — secção da pele.

LANGLADA, F. G. e BELLUOMINI, H. E. — Contribuição a técnica operatória de serpentes I — hemipenicectomia bilateral em serpentes.
Mem. Inst. Butantan, 36: 73-78, 1972.

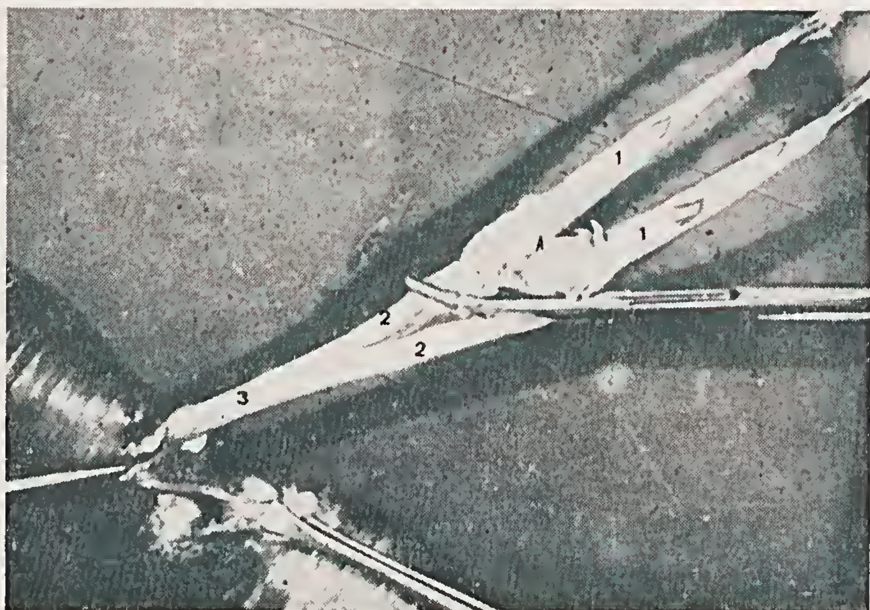


Fig. 5: Fotografia mostrando a tração do músculo retrator do hemipenis. 1 — Ramos do hemipenis; 2 — Ramos do músculo retrator do hemipenis; 3 — Músculo retrator do hemipenis; A — Base do hemipenis; B — Pele seccionada.

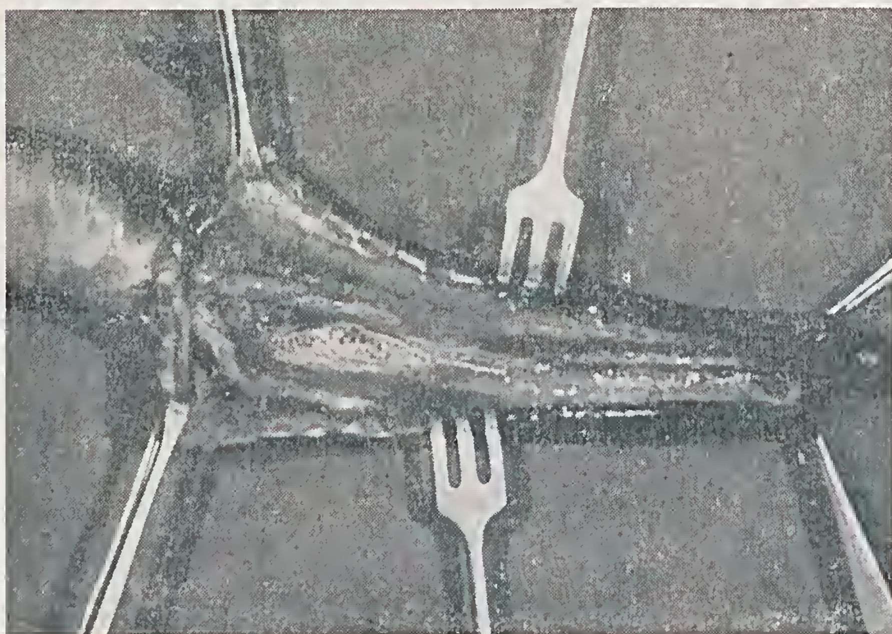


Fig. 6: Fotografia que mostra o aspecto necroscópico das cavidades dos hemipenis após 30 dias, mostrando a inexistência de aderências ou hematomas.

Mem. Inst. Butantan
36: 79-88, 1972.

CONTRIBUIÇÃO A TÉCNICA OPERATÓRIA DE SERPENTES II *

DERIVAÇÃO INTESTINAL, COLOSTOMIA E CLOACORRAFIA (PARA OBTENÇÃO DE URINA SEM CONTAMINAÇÃO FECAL EM CLOACA DE SERPENTES).

FRANCISCO GARCIA DE LANGLADA**
NAOMI SHINOIYA***

Seção de Anatomia Patológica
Instituto Butantan

RESUMO — Para obtenção de urina de serpentes sem contaminação fecal destinada a dosagens hormonais da mesma idealizaram os autores técnica própria para estes animais, com a qual transformam a cloaca em depósito de urina após desviar o intestino para o exterior por meio de uma derivação cirúrgica.

Analisam a técnica apresentando obtenção de urina.

Estes estudos foram realizados em 12 serpentes do gênero *Crotalus* e em 12 do gênero *Bothrops*. Os resultados foram considerados satisfatórios tanto no que diz respeito à técnica cirúrgica preconizada quanto ao material obtido.

UNITERMOS — Derivação intestinal, colostomia e cloacorrafia em serpentes.

INTRODUÇÃO

No andamento dos nossos trabalhos sobre reprodução de serpentes em cativeiro tivemos necessidades de estudar o seu ciclo hormonal. Para isso tínhamos duas possibilidades. Uma através pesquisa e dosagens dos hormônios diretamente do soro sanguíneo, trabalho que estamos realizando em colaboração com o Professor Ladowsky, de Curitiba, e que implica no sacrifício do animal para a obtenção de volume suficiente de sôro. Outra possibilidade seria a de realizar dosagens hormoniais na urina. Isto nos permitiria estudar um mesmo animal durante muito mais tempo já que não implica em seu sacrifício.

Em serpentes, a obtenção de urina isolada, sem contaminação de outros elementos, oferece dificuldade técnica pois o cateterismo dos ureteres é impraticável devido à luz reduzida dos mesmos.

A fim de resolver essa dificuldade e não tendo achado na literatura solução adequada, idealizamos a seguinte técnica operatória baseada em adaptações e modificações de técnicas humanas já existentes.

---

* Trabalho realizado com auxílio do F.E.D.I.B.
** Assistente da Seção de Anatomia Patológica do Inst. Butantan.
*** Estagiária voluntária do Laboratório de Fisiopatologia do Inst. Butantan.

Endereço para correspondência:
C.P. 65, São Paulo, Brasil.



MATERIAL E MÉTODO

Estudamos doze serpentes do gênero *Crotalus* e doze do gênero *Bothrops*, acompanhando a evolução cirúrgica durante 20 dias, já que nos pareceu, passando este prazo, fora de cogitação cirúrgica qualquer problema que por ventura aparecesse.

Escolhemos sempre serpentes adultas, com mais de 500 grs. para maior facilidade de manipulação.

Trabalhamos com material cirúrgico esteril, e usamos suturas de "categute" cromado números 000 e 0000 com agulha atraumática e fio de algodão, médio, para a pele.

Assepsia circular de todo o terço inferior da serpente com Mertiolate.

Fizemos as colheitas de urina após a cirurgia por cateterismo da cloaca através do esfinter anal, com tubo de polietileno P-90, previamente esteril.

TÉCNICA

Por incisão mediana que abrange da 140 a 160 escamas ventrais abordamos a cavidade ventral. Encontramos o mesentério que afastamos para o lado esquerdo, indo cair, desta forma sobre a prega peritoneal que envolve o intestino ao nível da sua junção com a cloaca. Fizemos sobre a prega, incisão longitudinal para abordar melhor a rede vascular do meso, dividindo-a em duas a fim de poder localizar o nível da seção do intestino de tal modo que não venham a ficar sem irrigação, tanto o intestino, como a cloaca. Procuramos ao máximo não diminuir esta irrigação que anatomicamente já é precária na serpente.

Pinçamos o intestino, cerca de 2 cms. acima da sua união com a cloaca, conforme permita sua irrigação sanguínea usando duas pinças de Kelly retas e curtas. Praticamos a seção do intestino entre as pinças, com bisturi previamente molhado em tintura de iôdo.

Assim isolado o intestino da cloaca, procedemos inicialmente ao fechamento da cloaca pela mesma técnica de ligadura e sutura circular com sepultamento utilizadas no coto das apendicectomias humanas. Depois de fechado o coto, para evitar tanto o prolapso como o colapso, fixamos este com um ponto de "categute" à face interna da parede ventral, previamente avivada por fricção com gaze montada em clampe.

A seguir, praticamos incisão da parede ventral no lado direito entre duas costelas, mais ou menos a três centímetros acima do vértice cranial da incisão mediana, com abertura suficiente, para caber a porção intestinal que havíamos separado da cloaca. Por ela transpassamos o intestino com a ajuda de pinça. Fixamos a borda cruenta do intestino à parede costal com pontos separados de "categute" unindo a muscular do intestino ao músculo intercostal seccionado e a pele. Evitamos assim tanto a penetração de elementos estranhos como a reintrodução espontânea do coto na cavidade ventral.



Suturamos a ferida ventral com pontos separados, utilizando fio de algodão n.º 24. Após nova assepsia das bordas da fistula, e suas proximidades com Mertiolate, praticamos curativo-receptáculo das fezes. Este curativo é realizado da seguinte maneira: recobrimos a fístula com gaze esteril, sobre a qual colocamos chumaço de algodão hidrófilo, (também esteril). Para fixar o conjunto introduzimos a serpente com o curativo através do tubo de um dreno de Penrose, do qual previamente retiramos a gaze; o dreno de Penrose deverá ter um diâmetro igual ou pouco menor que o diâmetro da serpente, na área a ser enfaixada.

Uma vez instalado o curativo fizemos a lavagem interna, da cloaca, via anal, com solução fisiológica, usando seringa e tubo de polietileno de diâmetro adequado.

A finalidade desta lavagem é eliminar todos os resíduos fecais da cloaca já que, a partir deste momento, ela passará a receber apenas urina pura certamente sem contaminação fecal, pois a evacuação ficou derivada para o exterior através da fístula, intestinal, implantada na parede costal.

Como a cirurgia intestinal provoca desidratação grave nas serpentes é aconselhável que se introduza no estômago da serpente, por via oral, com auxílio de seringa e sonda, logo a seguir do ato cirúrgico, 25 ml de água, repetindo-se esta operação seis horas após. Além da hidratação nos permitirá tal manobra retirar por cateterismo da cloaca, agora bexiga urinária artificial, a urina que aparece após 24 horas.

RESULTADOS

Pelo método anteriormente descrito, após 24 horas da cirurgia, nos permitiu retirar por cateterismo da bexiga artificial, quantidades de urina sem contaminação fecal que oscilava entre 4 ml e 10 ml para o gênero *Crotalus* e entre 1 ml e 3 ml para o gênero *Bothrops*.

Nos cateterismos posteriormente realizados com intervalos de 5 dias obtivemos as quantidades de urina não contaminada com fezes que estão descritos nas tabelas I para o gênero *Crotalus* e II para o gênero *Bothrops*.

A sobrevida cirúrgica, é em média de 40 dias para ambos os gêneros.

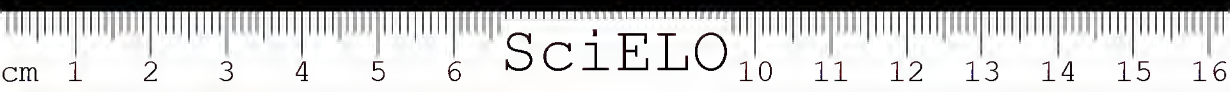
SUMMARY — The authors developed a technique, specific for snakes, in order to obtain urine for hormonal analysis without fecal contamination. This technique involves transformation of the cloaca into a depository for urine after turning the intestine to the exterior by means of a surgical colostomy.

Technique and results are analysed.

These studies were accomplished using 12 snakes of the genus *Crotalus* and 12 of the genus *Bothrops*. The results were considered satisfactory from the point of view of surgical technique as well as material collected.

UNITERMS — Intestinal derivation, colostomy and cloacorraphy in serpents

Recebido para publicação: 30/6/72
Aceito para publicação: 15/9/72



COLETA DE URINA NO GÊNERO *CROTALUS*

SEXO	PÊSO (grs.)	24 hs.	5 dias	10 dias	15 dias	20 dias	TOTAL DE URINA em ml/indiv.
♀	300	10	12	16	8	0	36
♂	500	10	20	6	0	0	26
♀	400	6	12	7	14	0	33
♀	800	2	28	12	9	0	49
♂	860	5	12	25	6	0	43
♀	640	0	12	5	10	7	34
♂	350	2	6	18	10	0	34
♀	400	2	20	6	8	0	34
♀	380	5	1	10	12	7	30
♂	600	2	12	7	10	0	29
♀	700	5	6	12	9	0	27
♂	720	3	8	12	16	6	42
12	555,8	4,3	12,4	11,3	9,3	1,6	34,7

COLETA DE URINA NO GÊNERO *BOTHROPS*

SEXO	PÊSO (grs.)	24 hs.	5 dias	10 dias	15 dias	20 dias	TOTAL DE URINA EM ML/INDIV.
♂	325	0	3	3	0	3	9
♂	220	1	3	5	2	4	14
♀	500	2	3	2	1,5	0	6,5
♂	560	1	2	1	3	0	6
♂	490	2	1,5	1	4	0	6,5
♀	460	1	2	2	3	1	8
♀	390	2	3	0	0	2	5
♂	320	3	6	3	0	1	10
♂	500	1	3	0	0	3	6
♀	290	1	3	1	1	0	5
♂	500	1,5	6	1	0	0	7
♀	490	1	3	0			3
12	420,4	1,37	3,21	1,58	1,21	1,16	7,16



LANGLADA, F. G. e SHINOIYA, N. — Contribuição a técnica operatória de serpentes II. *Mem. Inst. Butantan*, 36: 79-88, 1972.

DERIVAÇÃO INTESTINAL — COLOSTOMIA E CLOACORRAFIA PARA OBTENÇÃO DE URINA SEM CONTAMINAÇÃO FECAL EM SERPENTES

Nomenclatura comum a tôdas as fotografias:

1 — Adiposidade mesentérica
2 — Vasos mesentéricos
3 — Rim
4 — Cloaca
4A — Intestino grosso
5 — Mesentério
6 — Abertura do mesentério
7 — Parede costal
8 — Parede costal, face externa



LANGLADA, F. G. e SHINOIYA, N. — Contribuição a técnica operatória de serpentes II. *Mem. Inst. Butantan*, 36: 79-88, 1972.

DERIVAÇÃO INTESTINAL, COLOSTOMIA E CLOACORRAFIA (PARA OBTENÇÃO DE URINA SEM CONTAMINAÇÃO FECAL EM CLOACA DE SERPENTES).

ESQUEMA DE NOSSA TÉCNICA.

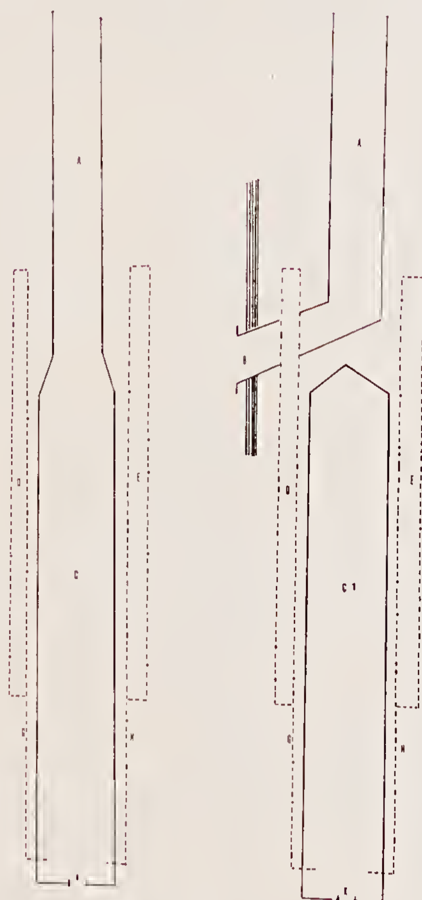


Figura n.º 1: Anatomia normal. Figura n.º 2: Mutação anatômica após a execução de nossa técnica.

A. Intestino grosso; B. Ponto de fixação do intestino grosso a pele (Colostomia); C. Cloaca normal; C1. Cloaca convertida em bexiga urinária; D. Rim esquerdo; E. Rim direito; F. Pele; G. Ureter esquerdo; H. Ureter direito; K. Esfinter anal.

DERIVAÇÃO INTESTINAL — COLOSTOMIA E CLOACORRAFIA PARA OBTENÇÃO DE URINA SEM CONTAMINAÇÃO FECAL EM SERPENTES.

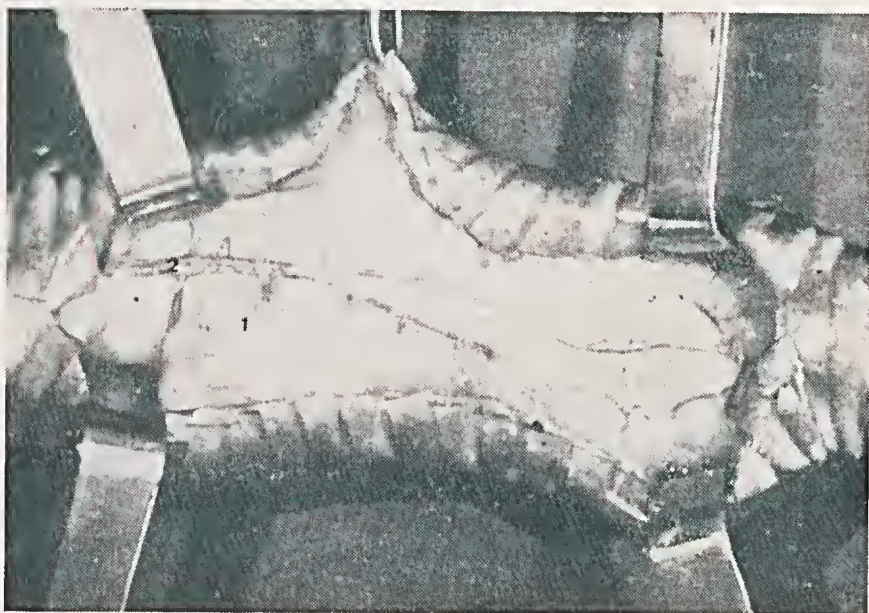


Fig. 1: Fotografia mostrando a incisão da parede ventral, adiposidade (1) e vasos mesentéricos (2).



Fig. 2: Fotografia mostrando a abertura do mesentério (6) e pinçamento do intestino grosso (4A) para sua separação, por corte da cloaca (4).

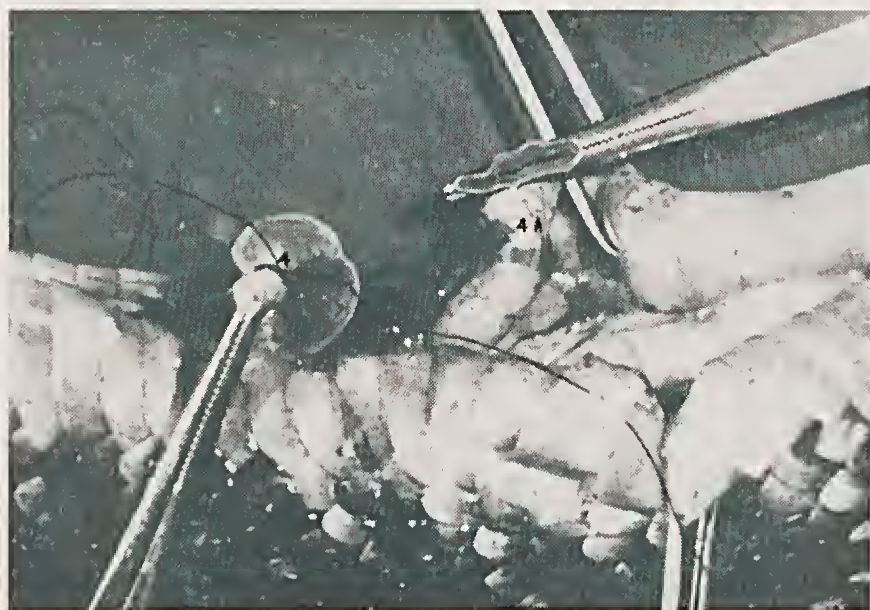


Fig. 3: Fotografia mostrando a ligadura em massa do côto da cloaca (4), já separado do intestino grosso (4A).



Fig. 4: Fotografia mostrando a invaginação com auxílio de pinça, do côto da cloaca (4) e sutura em forma de "Bolsa de tabaco", para sepultamento do mesmo.



Fig. 5: Fotografia mostrando a fixação com pontos, do côto da cloaca (4) à musculatura da parede costal (7).

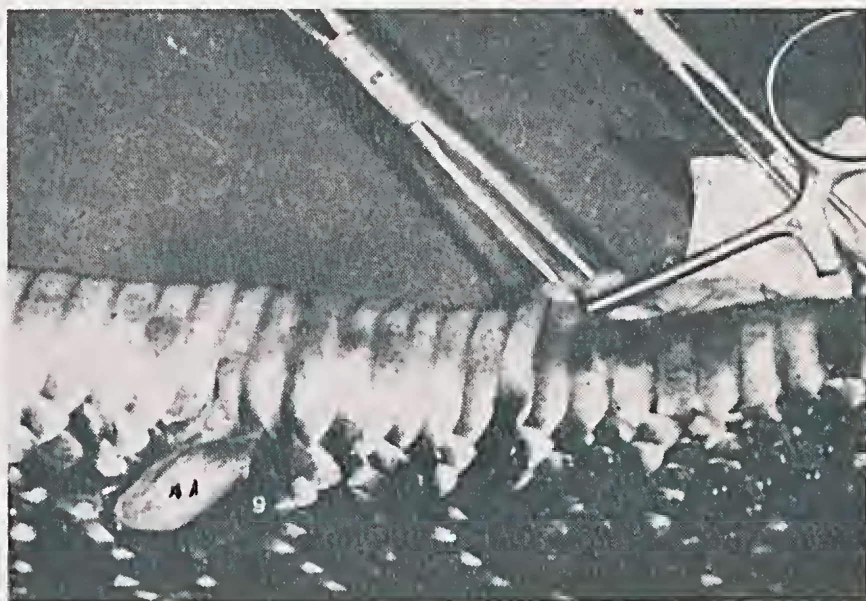


Fig. 6: Fotografia mostrando a exteriorização, com auxílio de pinça, do côto do intestino grosso (4A), através da parede costal (9).

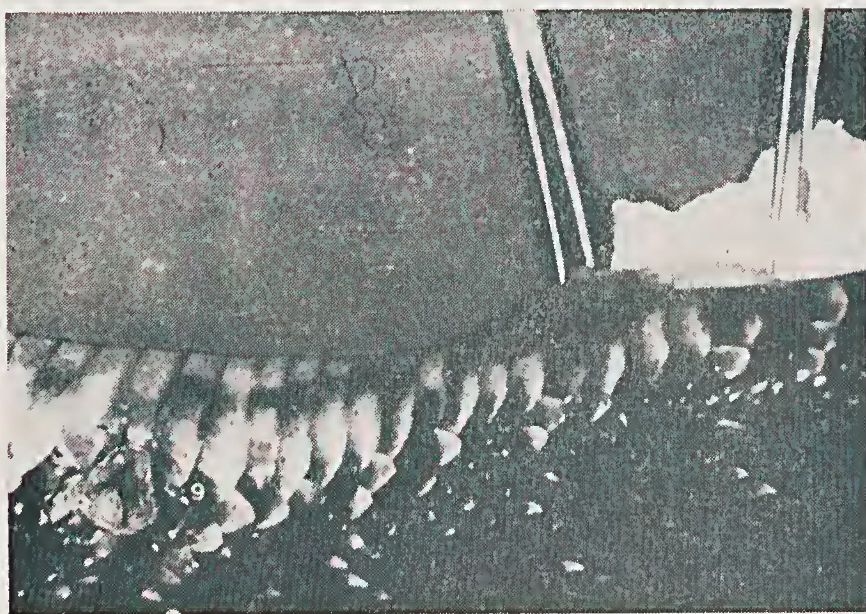


Fig. 7: Fotografia mostrando a colostomia, depois de fixada, por sutura, à musculatura da parede costal (9). (Clichê fotográfico retocado).

Mem. Inst. Butantan
36: 89-100, 1972.

CONTRIBUIÇÃO A TÉCNICA OPERATÓRIA DE SERPENTES III *

ABLAÇÃO DE GLÂNDULAS DE VENENO EM SERPENTES DO GÊNERO *CROTALUS*

FRANCISCO GARCIA DE LANGLADA**
HÉLIO E. BELLUOMINI***

Seção de Anatomia Patológica e Seção de Venenos.
Instituto Butantan

RESUMO — Os autores descrevem uma técnica operatória cuja finalidade é a retirada cirúrgica das glândulas principais veneníferas das serpentes. Esta técnica é realizada em serpentes do gênero *Crotalus* destinadas a reprodução e estudos de patologia e que portanto devem ser manuseadas freqüentetemente eliminando-se todo e qualquer risco de acidentes.

Os animais após a retirada da glândula foram observados pelo espaço de seis meses, mostrando durante todo o tempo comportamento normal.

UNITERMOS — Ablação cirúrgica de glândulas principais de veneno em serpentes do gênero *Crotalus*.

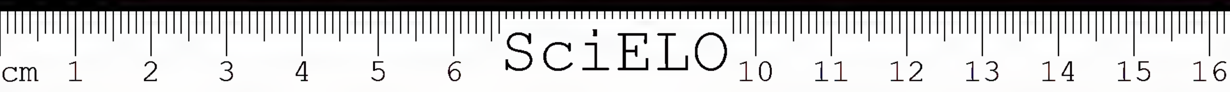
INTRODUÇÃO

No decorrer dos estudos que se realizam em nosso laboratório sobre a reprodução de serpentes por inseminação artificial, nos pareceu conveniente procurar métodos para evitar a possibilidade de acidente com os manipuladores de animais. Para tanto pensamos na ablação das glândulas de veneno das serpentes.

Encontramos na literatura: o trabalho de Jarros, 1940 (1) que tenta extirpar as glândulas veneníferas por coagulação. Phisalix e Bertrand, 1894 (3) realizando estudos hematológicos diferenciais "extraem" glândulas de serpente. Kelawai C. H., 1938 (2) em estudos de toxicidade do plasma refere que "extirpa" glândulas de veneno em Tiger Snake (*Notechis sculatus*) e Tai J. 1938 (4) refere trabalho que retira a glândula de veneno através da "bochecha" da serpente. Notamos nesses trabalhos a falta de dados técnicos elucidativos dos métodos de retirada das glândulas, bem como casuística e conseqüência das ablações além de serem realizadas em outros gêneros de serpentes. Isto nos levou realizar a presente técnica operatória que estuda e compara duas

* Com auxílio do F.E.D.I.B.
** Assistente da Seção de Anatomia Patológica do Inst. Butantan.
*** Chefe do Serviço de Animais Peçonhentos do Inst. Butantan.

Endereço para correspondência:
C.P. 65, São Paulo, Brasil.



vias de acesso para extração de glândulas de veneno de serpentes. Acompanhamos os animais operados durante tempo superior ao do pós-operatório, para demonstrar a tolerância à técnica.

Realizamos a técnica em 25 exemplares do gênero *Crotalus* "cascavéis" adultos, machos e fêmeas que foram capturados e operados em diferentes estações do ano, entre 1.966 e 1.969.

Cada animal foi alojado em caixa individual, nas condições usuais de laboratório. Diariamente oferecia-se em cada caixa um camundongo para controle de alimentação.

Para observar o estado de saúde no pós-operatório baseamo-nos nos seguintes itens: agressividade, movimentação, alimentação, evacuação, alteração do peso corporal, mudas de pele e controle da ferida cirúrgica.

TÉCNICA CIRÚRGICA

1) *Fixação da serpente:*

É feita manualmente por um auxiliar que fixa a cabeça pela porção cervical entre o polegar e o indicador, e com a outra mão sustenta o corpo do animal sobre a mesa.

2) *Assepsia:*

Usa-se água com sabão neutro e a seguir um antisséptico do tipo Mertiolate ou Espadol que se passa por toda a cabeça tendo o devido cuidado para não penetrar nas fossetas loreais, narinas e boca.

3) *Vias de acesso:*

Ensaiamos duas vias de acesso, uma externa cuja incisão é feita entre a primeira e segunda fileira de escamas paralela ao lábio e vai desde a altura da fosseta loreal até o nível da comissura labial; outra, interna, feita exatamente sobre a linha de transição entre a mucosa da boca e as escamas supralabiais com início imediatamente atrás do feixe vascular visível, que corre transversalmente e logo posteriormente à presa terminando junto à comissura labial.

Afastando as bordas da fenda cirúrgica tanto por uma como por outra via, cairemos diretamente sobre a glândula de veneno (fig. 1) mostrando em sua porção dorsal, um forte músculo "compressor glandulae" que a cavalga, uma faixa nítida, na borda ventral da glândula, um ducto que se dirige para a presa, e em sua porção distal um ligamento de tecido conjuntivo.

Dissecamos a seguir cuidadosamente com tesoura, em movimento de divulsão, o músculo "compressor glandulae" exatamente na sua inserção sobre a glândula (fig. 2). Não é comum ocorrer hemorragia, pois a irrigação desse músculo é feita pela outra borda de inserção.

A ressecção do "compressor glandulae" deve ser iniciada pela face externa da glândula e depois seguindo pela borda dorsal da mesma, ressecar a inserção

interna. Não é aconselhável a ressecção por via inferior e posterior em relação a glândula pois corre-se o risco de lesar os ramos do trigêmeo e os grandes vasos da região que correm em contacto direto com a face interna desse músculo e a glândula. Caso, ocorra, é suficiente um pinçamento temporário com uma pinça de Kelly para obter uma hemostasia eficiente.

Livre a glândula de seu músculo, seccionamos o canal entre duas pinças, e ligamos o coto com categute cromado 0000. Rebatemos a glândula para trás e para cima e então seccionamos com tesoura a ligamento de sua extremidade caudal (fig. 3).

Retirada a glândula, fixamos com pontos de categute cromado 0000 montado em agulha atraumática, o músculo "compressor glandulae" aos músculos do assoalho palatino, para assim evitar a depressão de pele causada pela retração da musculatura e ausência da glândula (fig. 4).

Suturamos a incisão quer da pele (via externa) quer da mucosa (via interna) com pontos separados de categute 0000 cromado, montado em agulha atraumática. A seguir a sutura e adjacências são desinfectados com um antisséptico.

Ambas as incisões não mostram diferenças técnicas ou vantagens clínicas. A externa é de execução mais simples e se pode trabalhar com a boca do animal fechada, mas pode dar alterações no desenho da pele, se a sutura não for minuciosamente feita e a cicatriz não se der por primeira intenção.

A interna requer mais habilidade mas parece mais aconselhável do ponto de vista estético, mesmo que ocorram complicações no pós-operatório (hematomas, micro-infecções da ferida, etc)

PÓS-OPERATÓRIO

Nos primeiros dois ou tres dias há discreta diminuição da agressividade em alguns exemplares (armam apenas o bote). A seguir a agressividade se normaliza, passando a terem a conduta normal das serpentes em cativeiro. Alimentam-se, bebem água e não apresentam problemas mecânicos na movimentação das presas. Quando agridem o camundongo, o fazem normalmente. Para se alimentarem agridem como de hábito, os camundongos que lhes foram oferecidos. Todas elas após a mordida, mantém o animal preso com a boca até que este morra.

Alguns camundongos que foram mortos por estas serpentes e não ingeridos mostraram à necrópsia, hemorragias viscerais graves provocadas por agentes perfurantes, nestes casos as presas.

As mudas de pele ocorreram normalmente e não houve variação do peso corporal durante o período de observação que na maioria dos casos foi superior a 6 meses. A cicatrização se fez em 15 dias em média. Em nenhum caso houve deiscência de sutura. Não foi necessário a retirada dos pontos, deixamos a ferida cirúrgica exposta ao ambiente sem outros cuidados.



Após o 2.º mês, a cicatriz é uma linha apenas perceptível (na técnica por via interna) e imperceptível quando feita pela técnica de via externa.

Acreditamos ter demonstrado a inocuidade da técnica descrita, pois salvo um discreto hematoma unilateral em um dos exemplares operados não tivemos nenhuma outra complicação.

SUMMARY — The authors describe a technique for the surgical removal of the principal venom glands of snakes. This technique is used in studies on reproduction and pathology, thereby eliminating any risk when frequently handled.

After removal of the glands, the snakes were observed for a period of six months, during which time they all exhibited normal behavior.

UNITERMS — Surgical removal of the venom glands in snakes of the genus *Crotalus*.

LANGLADA, F. G. e BELLUOMINI, H. E. — Contribuição a técnica operatória de serpentes III. *Mem. Inst. Butantan, 36*: 89-100, 1972.

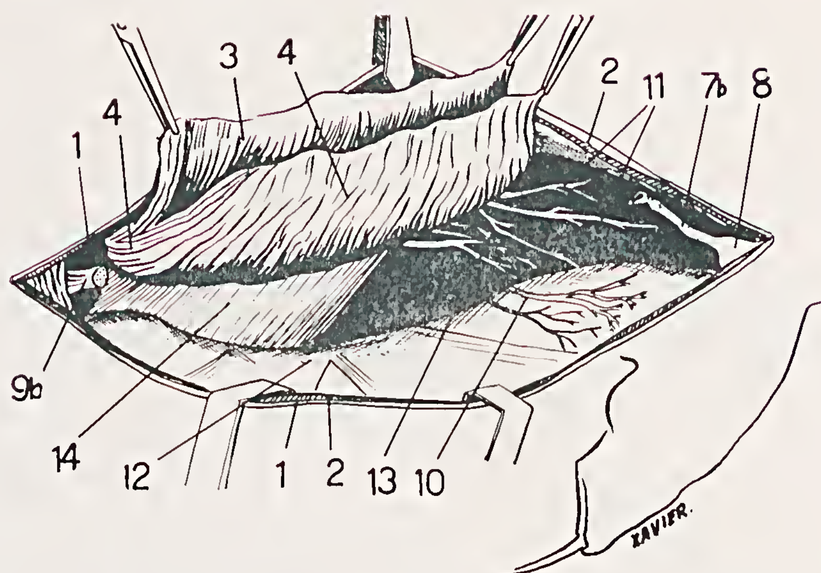


Fig. 1: Desenho esquemático que mostra a incisão da pele e afastamento das bordas da mesma, mostrando a glândula de veneno, ducto venenífero e a glândula acessória.

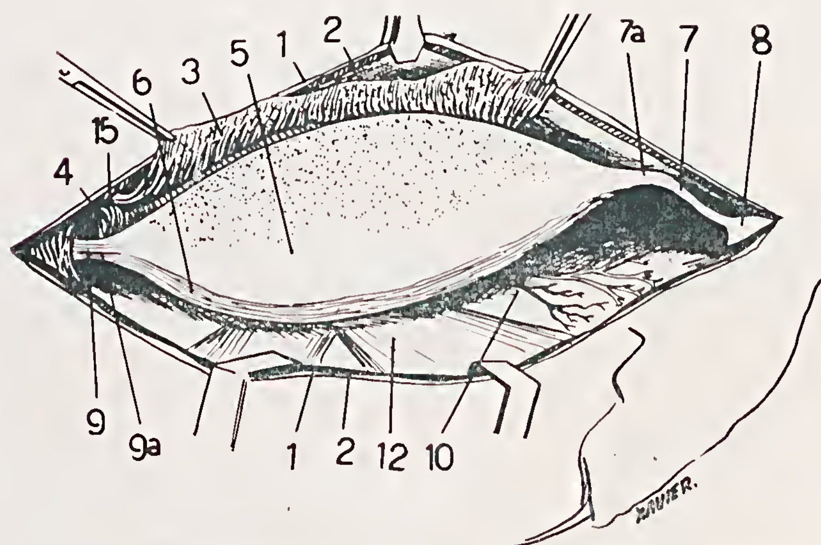


Fig. 2: Desenho esquemático mostrando o músculo compressor da glândula de veneno, ressecado e rebatido debaixo para cima, da frente para atrás.

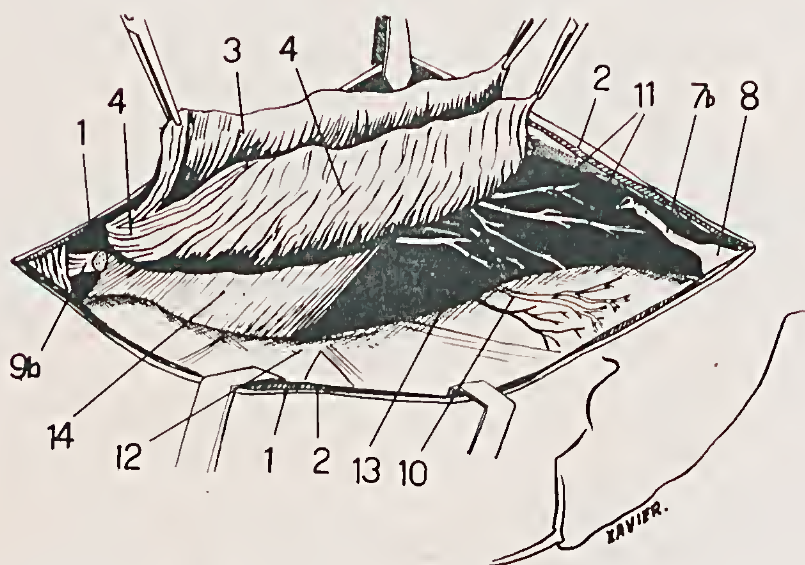


Fig. 3: Desenho esquemático mostrando a glândula de veneno já retirada.

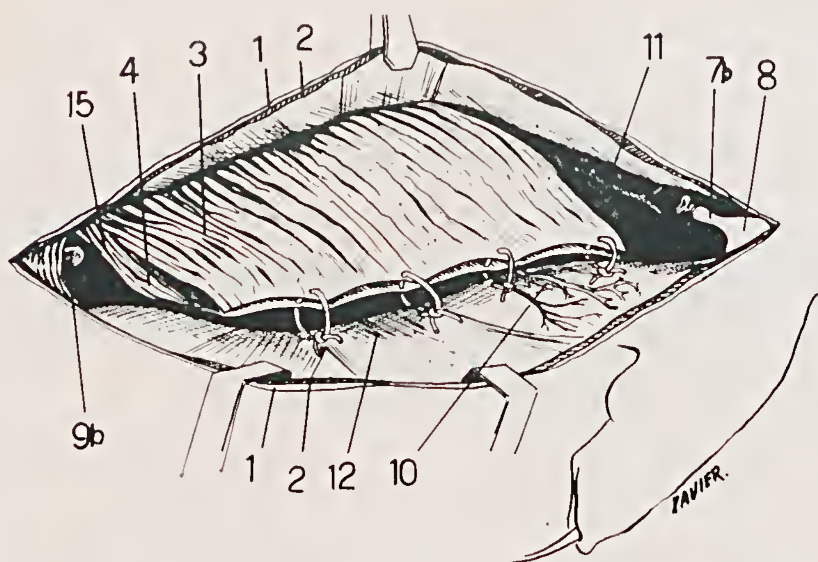


Fig. 4: Desenho esquemático mostrando o afrontamento por sutura interrompida das bordas das duas porções do músculo compressor da glândula de veneno, à face interna da camada muscular profunda do palato, fixando-o dessa maneira.

LANGLADA, F. G. e BELLUOMINI, H. E. — Contribuição a técnica operatória de serpentes III. *Mem. Inst. Butantan*, *36*: 89-100, 1972.

NOMENCLATURA COMUM AS FIGS. N°S. 1, 2, 3 e 4

1. Pele
2. Celular subcutâneo
3. Músculo compressor da glândula de veneno, porção externa
4. Músculo compressor da glândula de veneno, porção interna
5. Glândula de veneno
6. Fascia brilhante da borda inferior da glândula
7. Ducto venenífero
7a. Ponto de secção do ducto venenífero
8. Glândula acessória
9. Ligamento posterior da glândula de veneno
9a. Ponto de seção do ligamento posterior da glândula de veneno
9b. Coto do ligamento da glândula de veneno
10. Fecho vasculo-nervoso das estruturas moles da região palatina
11. Fecho vasculo-nervoso ramos faciais que correm posteriores ao músculo compressor da glândula e a face interna da mesma
12. Parede muscular do palato face interna
13. Face interna das estruturas musculares do palato
14. Plano muscular profundo
15. Borda do músculo compressor da glândula





Fig. 5: Fotografia mostrando a incisão, via interna.

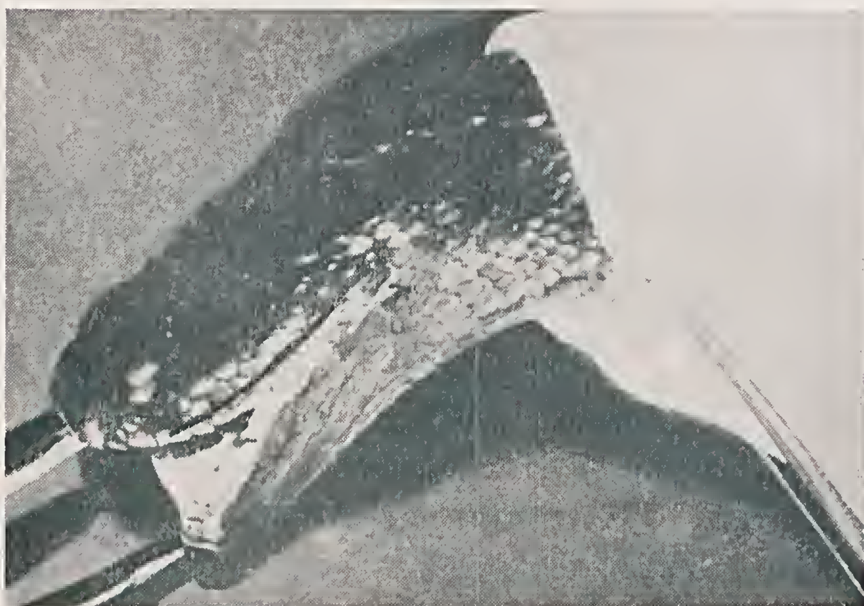


Fig. 6: Fotografia mostrando a incisão, via externa.



Fig. 7: Fotografia mostrando glândula de veneno (2) como é encontrada após a incisão da pele.

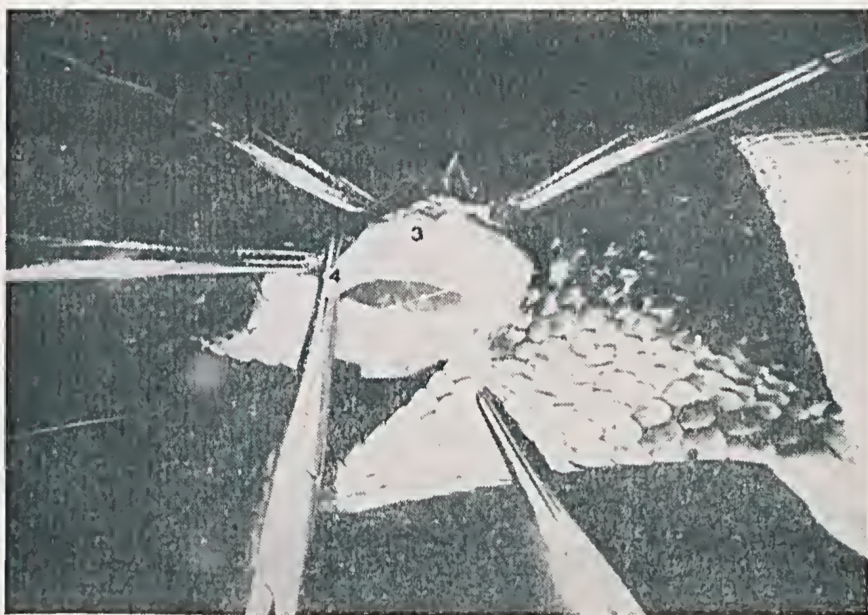


Fig. 8: Fotografia mostrando a glândula de veneno (3) e o ducto primário (4) entre pinças, para secção.

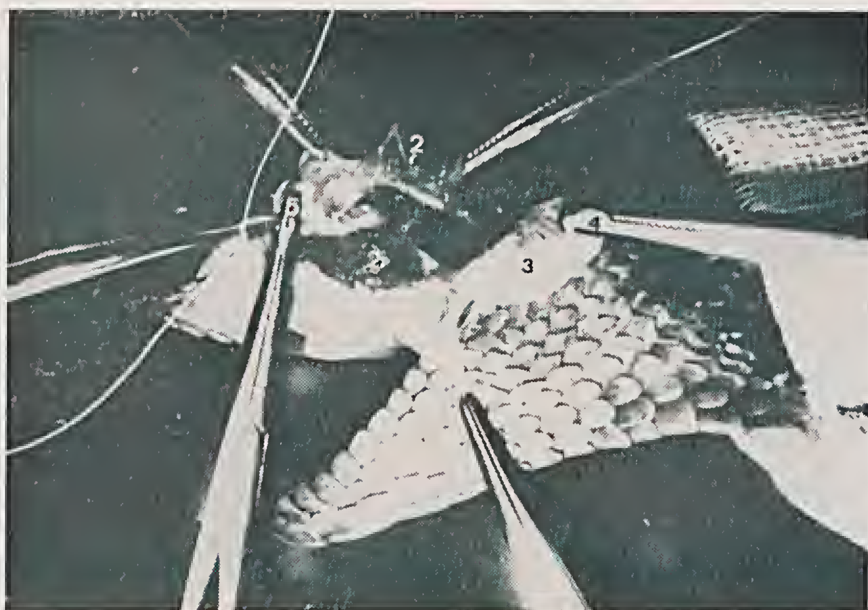


Fig. 9: Fotografia mostrando: Ligadura do côto cranial do ducto primário (5); 2. Ramo anterior do músculo "compressor glandulae". 2*. Ramo posterior do músculo "compressor glandulae". 3. Glândula principal de veneno; 4. Côto distal do ducto primário.

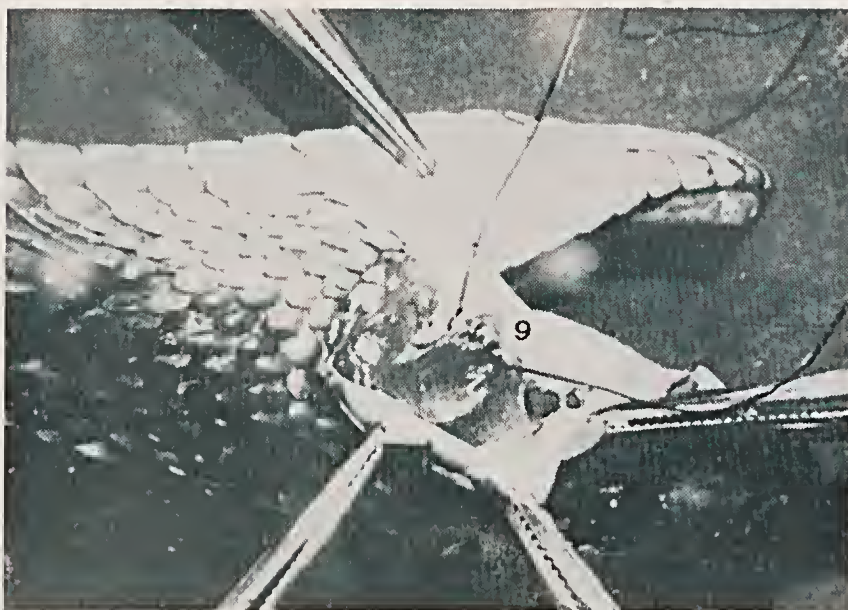


Fig. 10: Fotografia mostrando a fixação das bordas de ambas as lâminas musculares do "compressor glandulae", na face interna do palato (6). Ramo anterior do músculo "compressor glandulae" (2).



Fig. 11: Fotografia do palato mostrando o aspecto da sutura contínua da incisão pela via interna (A).

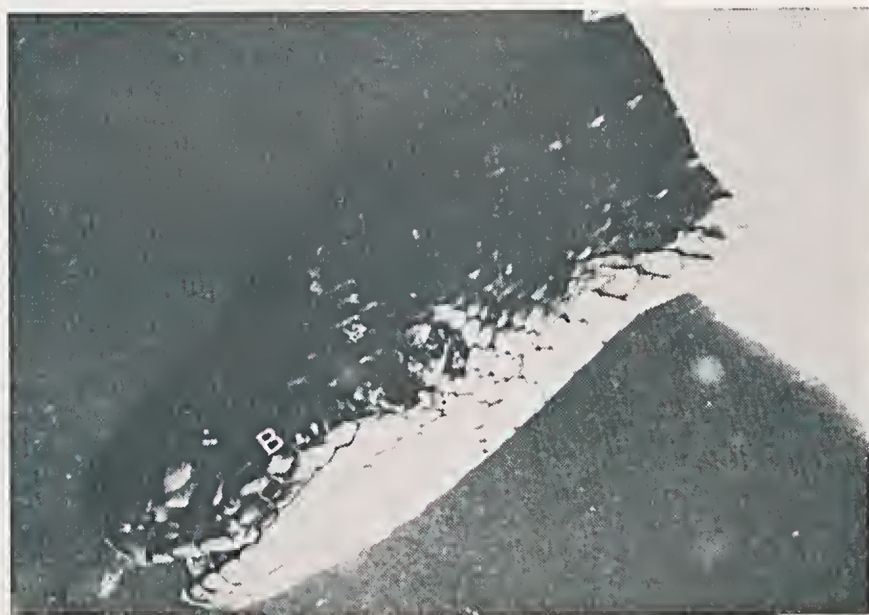


Fig. 12: Aspecto da sutura da incisão pela via externa (B).

BIBLIOGRAFIA

1. JAROS, D. B.: Coelusion of the venom duct of *Crotalidae* by electrocoagulation: An Innovation in Operative Technique. *Zoologia XXV:* 49-51, 1940.

2. KELLAWAY, C. H.: The results of the excision of the venom glands of the Australian Tiger Snake (*Notechis scutatus*). *Australian Jour. Exper. Biol. Med.* 15-16: 121-130, 1937-1938.

3. PHISALIX, C. et BERTRAND, G.: *Compt. Rend. Acad. Sci.*: 119:919. 1894

4. TAIT, J.: Surgical removal of the poison glands of rattlesnakes. *Copeia* 10-13, 1938.

Recebido para duplicação: 30/6/72

Aceito para publicação: 11/9/72



Mem. Inst. Butantan
36: 101-108, 1972.

"CONSEQÜÊNCIAS DA ABLAÇÃO CIRÚRGICA DA GLÂNDULA PRINCIPAL DE VENENO EM *CROTALUS*: COMPORTAMENTO DO ANIMAL E ESTUDO HISTOPATOLÓGICO DA GLÂNDULA ACESSÓRIA":

FRANCISCO G. DE LANGLADA*
HÉLIO BELLUOMINI**
JESUS CARLOS MACHADO***

Laboratórios de Anatomia Patológica e Serviço de Animais Peçonhentos do Instituto Butantan.

RESUMO — Referem os autores o comportamento, durante 14 meses, de 25 serpentes do gênero *Crotalus* submetidas a ablação bilateral da glândula principal de veneno, por técnica própria já descrita por dois dos autores (S.B.P.C. XXII Reunião anual 1.969). Assinalam que durante esse tempo o comportamento das mesmas não foi alterado (agressividade, repouso, alimentação, evacuações, mudança de pele, peso corporal e prenhez). Estudaram também histologicamente a glândula acessória e o ducto secundário em 6 destes casos. Verificaram que a alteração mais freqüente é a dilatação dos túbulos glandulares ao lado de moderada hiperplasia. Atribuem a dilatação à impossibilidade da saída do produto elaborado por deficiências anatômicas decorrentes da ablação. A hiperplasia, acreditam seria de tipo compensadora motivada pela exerese da glândula principal.

UNITERMOS — Comportamento de serpentes. Histopatologia das glândulas acessórias de veneno.

INTRODUÇÃO

Em estudo anterior (3), dois dos autores do presente trabalho, preconizaram a ablação cirúrgica das glândulas veneníferas principais, em serpentes mantidas em cativeiro, para finalidades de estudo, a fim de evitar-se acidentes no seu manuseio. Em decorrência dessa ablação, surgiram duas questões que mereceram de imediato a atenção. Primeiro, qual seria o comportamento das serpentes assim mutiladas e em segundo lugar quais seriam as alterações processadas nas glândulas acessórias. Estas, por questões anatômicas de proximidade (desenho 1), não podem ser retiradas sem graves riscos para as presas do animal. A perda dessas, para as serpentes, seria indesejável, seja

* Seção de Anatomia Patológica do Instituto Butantan.
** Diretor do Serviço de Animais Peçonhentos do Inst. Butantan.
*** Diretor da Divisão de Patologia do Instituto Butantan.

Com auxílio do F.E.D.I.B.

Endereço para correspondência:
C.P. 65, São Paulo, Brasil

pela dificuldade que teriam em se alimentar, seja pela perda anatômica de peça tão significativa. Desta forma decidimos pesquisar esses aspectos em serpentes submetidas à ablação das glândulas veneníferas principais.

MATERIAL E MÉTODO

Vinte e cinco serpentes foram previamente submetidas a retirada cirúrgica das glândulas principais de veneno pela técnica de Langlada-Belluomini. Foram observadas em seu "habitat" no laboratório durante um ano, com pesagens mensais para acompanhar seu desenvolvimento, ao lado de controle alimentar por oferecimento de número conhecido de camundongos ingeridos. O aspecto das evacuações, agressividade e mudanças de pele também foram anotados.

Após 14 meses foram sacrificados 6 exemplares para se fazer estudo histo-patológico da glândula acessória.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo do comportamento dos animais comparando-se o grupo adenectomizado e outro normal, não mostrou variações significativas. Apesar da ausência do veneno, a alimentação dos animais adenectomizados, não foi prejudicada. As mudanças de pele e mesmo a existência de prenhezes em alguns exemplares (tabela 1) mostraram a perfeita adaptação das serpentes à cirurgia efetuada.

As glândulas acessórias segundo E. Kochva e C. Gans (2) são estruturas ovalares cobertas, com pobre tecido conjuntivo e uma fina mas compacta, cápsula de tecido denso, com algumas fibras elásticas detectáveis. São constituídas basicamente de duas porções, uma anterior e outra posterior, com diferenças histológicas e histoquímicas nítidas. Os túbulos da parte anterior são rodeados por numerosas células mioepiteliais. Os túbulos possuem um epitélio misto. Centralmente na glândula notamos o ducto primário que se conecta perifericamente com dutos secundários que se encaminham para as presas. Segundo C. Gans e E. Kochva (1), as glândulas acessórias tem sido consideradas ora como um reservatório de veneno, ora como um esfíncter ou válvula para controlar a saída do veneno; ou como fonte de princípios ativos ou como produtor de diluentes para facilitar a saída do veneno da glândula principal pelas presas. Observações de que a glândula acessória é complexa e elabora diferentes tipos de mucopolissacarídeos nas suas várias regiões, que o padrão eletroforético do veneno obtido da glândula principal difere do veneno completo, que há diferenças na digestão péptica entre o veneno obtido da glândula principal e daquele obtido no ducto principal da glândula acessória, e ainda mais que homogenatos de glândula acessória aumentam a toxicidade do homogenato de glândulas principais, sugerem segundo C. Gans e

E. Kochva (1) que as funções da glândula acessória devam ser estudadas em outras direções.

Essas observações de C. Gans e E. Kochva sugerem, senão uma ação independente secretora, pelo menos uma produção secretora coadjuvante complementar da glândula acessória junto a glândula principal. Se há essa correlação de interdependência poderíamos supor que à retirada da glândula principal sobreviriam fenômenos adaptativos na acessória. A análise histológica de glândulas acessórias em 6 casos de *Crotalus* onde foram efetuadas ablações da glândula principal de veneno, nos mostraram inicialmente uma constante dilatação tubular de graus variáveis em 5 dos 6 casos conforme podemos verificar pela tabela 2. Por outro lado sinais de hiperplasia do epitélio glandular tubular foram verificados em 3 dos 6 casos. Esta hiperplasia (microfotos 1 e 2) verificou-se ser mais acentuada na parte anterior da glândula acessória e menos na posterior. A dilatação tubular pode ser decorrência, a nosso ver, das dificuldades determinantes da cirurgia efetuada, principalmente no que diz respeito a questões ligadas ao mecanismo muscular regional de esvaziamento da glândula. A hiperplasia observada seria indício de possibilidade compensadora da exerese da glândula principal de veneno.

SUMMARY — The authors studied, during 14 months, the behavior of 25 snakes of the genus *Crotalus* submitted to bilateral ablation of the main venom gland by a technique already related by two of the authors (SBPC, XXII Annual Meeting, 1969). It has been noted, that during this time the behavior (aggressiveness, rest, alimentation, evacuation, shedding, body weight and gestation) was not altered. Histological studies on the accessory gland and secondary duct were also done in six of these cases. The most frequent alteration was found to be a dilation of the glands tubules besides moderate hyperplasia. They attribute this dilation to the blocking of the duct, hindering the outflow of its product, due to anatomical defficiency induced by the ablation. They believe the hyperplasia to be of the compensatory type also caused by excision of the main venom gland.

UNITERMS: — Behavior of serpents. Histopathology of acessory venoums glands.

BIBLIOGRAFIA

1. GANS, C. and E. KOCHVA: The acessory gland in the Venom Apparatus of Viperid Snakes. *Toxicon*, 3, 61/63, 1965.

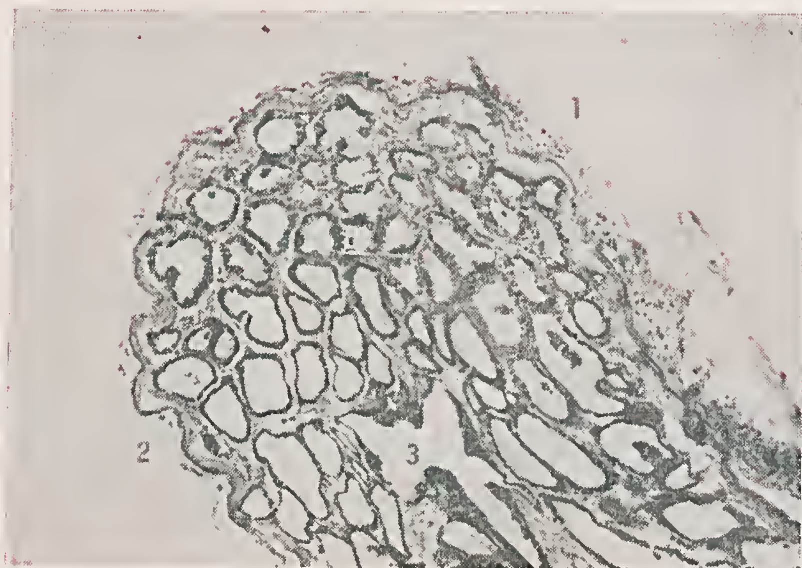
2. KOCHVA, E. and C. GANS: Histology and histochemistry of Venoms Glands of some Crotaline Snakes. *Copeia*, 3, 506/515, 1966.

3. LANGLADA, F. G. e BELLUOMINI, H.: Contribuição a técnica operatória de serpentes. Ablação de glândulas principais de veneno em serpentes. No prelo (*Memórias do I. Butantan*).

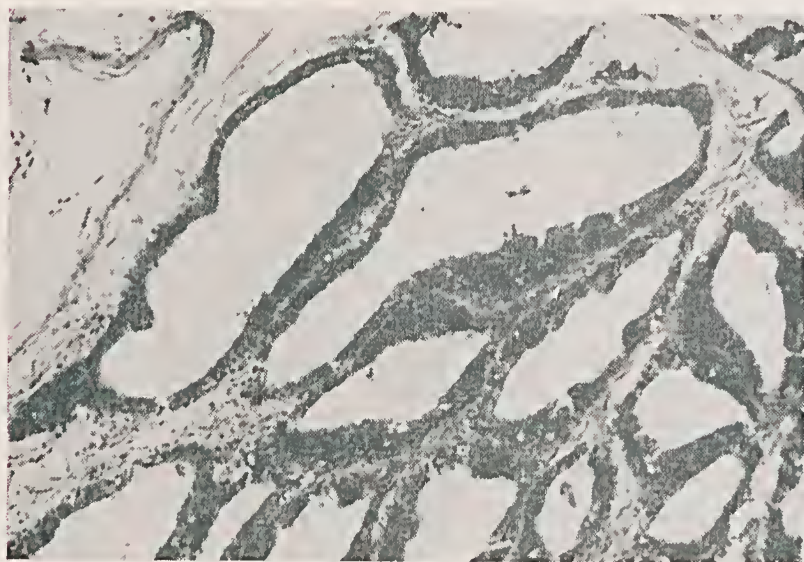
Recebido para publicação: 30/6/72

Aceito para publicação: 31/8/72

LANGLADA, F. G., BELLUOMINI, H. e MACHADO, J. C. — Conseqüências da ablação cirúrgica da glândula principal de veneno em *Crotalus*: comportamento do animal e estudo histopatológico da glândula acessória. *Mem. Inst. Butantan, 36*: 101-108, 1972.



Microfotografia 1. Coloração H.E. 40 X. Glândula acessória de veneno notando-se em 1 a parte anterior, em 2 a posterior e em 3 o duto principal. Os túbulos glandulares mais próximos ao principal mostram indícios de dilatação e os mais superiores da parte anterior sinais de hiperplasia.



Microfotografia 2. Coloração H.E. 100 X. Glândula acessória de veneno mostrando túbulos com sinais de hiperplasia no epitélio

TABELA 1

SEGUIMENTO INDIVIDUAL APÓS CIRURGIA

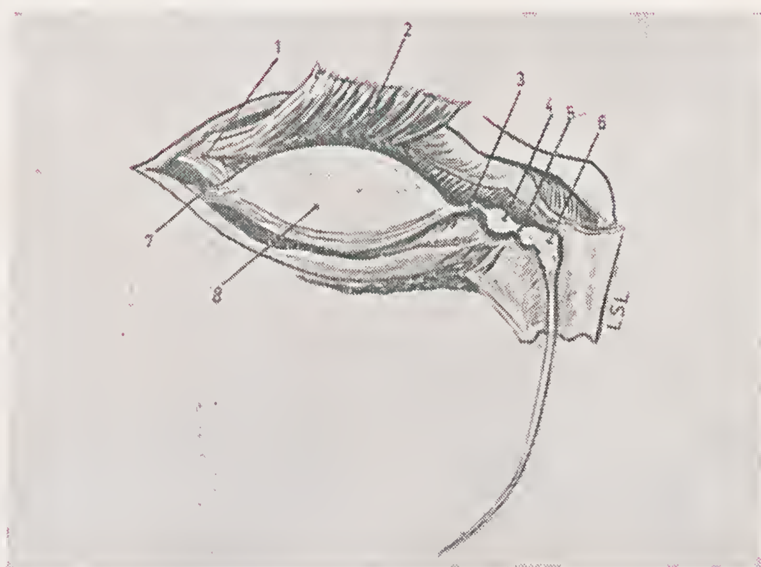
Dados individuais da serpente: experiência número	sexo	Data intervenção cirurgica: dia	mes	ano	via de acesso cirurgico	peso em gramas na data da operação	alterações do pêso corporal (meses): 1º	2º	3º	4º	5º	6º	cicatrização em dias	edema	hemorragia	infecção	outras complicações	1ª alimentação dias após cirurgia: sólida: espontâneo	auxiliado	liquida: espontâneo	auxiliado	1ª evacuação: aspecto das fezes	da cirurgia em dias	da alimentação em dias	mudanças da pele data	Outras particularidades
1	♀	20	XI	66	int.	750	750	800	780	800	800	810	20	—	—	—	—	10	—	10	—				12-II-67	Prenhez — parto normal
2	♂	20	XI	66	int.	650	680	700	700	700	690	700	18	—	—	—	—	6	—	8	—				6-II-67	
3	♂	20	XI	66	int.	700	700	740	750	740	780	800	20	—	—	—	—	12	—	23	—					Morte — 2-4-67
4	♀	20	XI	66	int.	600	670	850	800	870	870	890	18	—	—	—	—	23	—	40	—	normal	26	3	18-II-67	Prenhez — parto normal
5	♀	24	XI	66	int.	690	700	680	600	520	540	880	16	—	—	—	—	30	—	23	—	"			2-III-67	
6	♀	28	XI	66	int.	600	600	620	680	680	690	710	14	—	—	—	—	20	—	10	—	"			14-III-67	
7	♂	29	XI	66	int.	800	680	670	680	640	680	710	15	—	—	—	—	13	—	30	—	"			23-II-67	
8	♀	29	XI	66	int.	1000	980	900	1010	1000	910	960	13	—	—	—	—	13	—	30	—	"	20	10	20-II-67	
9	♂	29	XI	66	int.	780	750	720	680	670	690	690	23	—	—	—	—	7	—	30	—					Morte — 1-3-72
10	♂	29	XI	66	int.	800	800	810	830	840	850	880	15	+	+	—	hematoma	—	12	—	—					
11	♀	2	XII	66	int.	890	730	730	730	740	720	730	15	—	—	—	—	20	—	30	—				31-XII-66	Prenhez — parto normal
12	♀	2	XII	66	ext.	890	910	920	920	920	930	920	18	—	—	—	—	12	—	30	—				26-II-67	Prenhez — aborto
13	♂	2	XII	66	ext.	600	600	620	630	620	630	630	20	—	—	—	—	—	60	—	—	"	68		15-III-67	
14	♂	2	XII	66	ext.	300	260	210	210	240	240	250	18	—	—	—	—	15	—	60	—				14-II-66	
15	♂	15	XII	66	ext.	750	750	750	730	730	730	730	15	—	—	—	—	—	30	—	—		30	7	15-I-67	
16	♀	3	I	67	ext.	800	680	690	690	710	710	720	15	—	—	—	—	17	—	30	—	"	24	6	20-V-67	
17	♀	2	III	67	int.	910	900	900	910	910	910	910	15	—	—	—	—	17	—	17	—	"	36	6	10-IV-67	
18	♀	2	III	67	ext.	850	830	890	890	850	860	860	16	—	—	—	—	7	—	30	—	"			18-V-67	Prenhez — parto normal
19	♂	6	V	67	int.	750	740	740	740	770	760	780	18	—	—	—	—	12	—	30	—	"	36	6		
20	♂	6	V	67	ext.	650	660	660	660	670	680	670	15	—	—	—	—	6	—	12	—	Past.	18	6	17-VI-67	
21	♂	8	VIII	67	ext.	620	620	630	580	530	480	420	15	—	—	—	—	3	—	30	—	normal	30	12	26-XI-67	
22	♂	9	II	68	int.	700	710	700	700	690	810	800	15	—	—	—	—	6	—	20	—	"	14	6	12-II-68	
23	♀	9	II	68	ext.	980	880	880	870	870	870	920	17	—	—	—	—	8	—	15	—	"	15	8	18-II-68	Prenhez — aborto
24	♀	16	III	68	ext.	600	580	580	580	580	580	580	16	—	—	—	—	10	—	33	—	"	40	7		
25	♀	12	XII	68	int.	550	550	540	540	540	600	580	14	—	—	—	—	6	—	—	—	"	38		3-II-69	

ALTERAÇÕES DA GLÂNDULA ACESSÓRIA DE VENENO DE *CROTALUS DURISSUS TERRIFICUS* *após ablação da principal.*

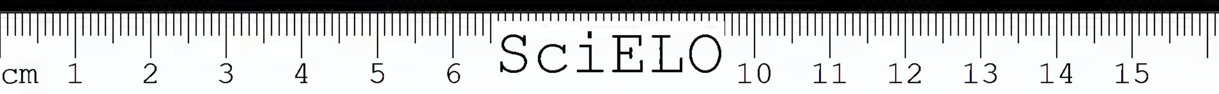
TABELA 2

Nº ORDEM	CASO Nº	SEXO	PÊSO	DIAS PÓS-ABLAÇÃO	DILATAÇÃO TUBULAR.	SINAIS HIPER-PLASIA	OUTRAS LESÕES
1	P. 290	M	600 grs.	36 dias (1 mês e 6 dias)	+	++	—
2	P. 292	F	300 grs.	95 dias (3 mêses e 5 dias)	+++	+	—
3	P. 284	F	600 grs.	231 dias (7 mêses e 21 dias)	++	—	Intensa hiperemia peri-glan-dular.
4	P. 285	M	400 grs.	270 dias (9 mêses)	—	—	—
5	P. 286	M	—	10 dias	+	+	—
6	P. 289	F	800 grs.	425 dias (14 mêses e 5 dias)	++	—	—

LANGLADA, F. G., BELLUOMINI, H. e MACHADO, J. C. — Conseqüências da ablação cirúrgica da glândula principal de veneno em *Crotalus*: comportamento do animal e estudo histopatológico da glândula acessória. *Mem. Inst. Butantan, 36*: 101-108, 1972.



Desenho 1: Esquema anatômico do aparelho venenífero — Gênero *"Crotalus"*. 1. Músculo "compressor glandulae". 2. Ramo anterior do músculo "compressor glandulae". 3. Ducto primário. 4. Glândula acessória. 5. Ducto secundário. 6. Presas. 7. Ligamento posterior da glândula principal. 8. Glândula principal de veneno.


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15

Mem. Inst. Butantan
36: 109-208, 1972.

SINOPSE DAS SERPENTES PEÇONHENTAS DO BRASIL

SERPENTES, ELAPIDAE E VIPERIDAE

por
A. R. HOGE e S. A. ROMANO**
(Seção de Herpetologia, Instituto Butantan)

RESUMO: — Sinopse das serpentes peçonhentas do Brasil.

UNITERMOS: — Serpentes peçonhentas do Brasil.

Elapidae; Elapinae, Micrurus sp, *Viperidae; Crotalinae, Bothrops, Crotalus* e *Lachesis.*

ABSTRACT — Checklist with keys and a brief review of the classification of snakes.

UNITERMS — Brazilian poisonous snakes. *Elapidae; Elapinae, Micrurus* sp, *Viperidae; Crotalinae, Bothrops Crotalus and Lachesis.*

Desde o trabalho de Amaral, em 1937, nenhuma lista, nem chave para as formas do Brasil foi publicada, muito embora houvessem revisões recentes dos *Elapinae e Crotalinae* da região neotrópica (Hoge 1966; Roze 1967; Hoge e Romano 1971, etc.) razão pela qual é elaborada esta lista.

A ordem *Serpentes* agrupa 2.800 espécies em várias Subordens e Famílias; o número destas varia de acordo com cada autor. Há ainda divergencias entre os autores quanto à classificação das Serpentes. Omitimos nesta lista os *Natricinae* e *Xenodontinae* que serão tratados posteriormente em separado.

ORDEM DAS SERPENTES

Subordem *SCOLECOPHIDIA*
- Família *Typhlopidae*
  - Subfamília *Anomalepinae*
  - *Typhlopinae*
- Família *Leptotyphlopidae*

Subordem *HENOPHIDIA*
- Família *Aniliidae*
  - *Uropeltidae* *
  - *Xenopeltidae* *
- Família *Boidae*
  - Subfamília *Loxoceminae* *
  - *Pythoninae* *
  - *Boinae*
  - *Bolyerinae* *

** Trabalho realizado com auxílio do CNPq e National Library of Medicine.



Tropidophinae
Eryeinae *

Subordem *CAENOPHIDIA*

Família *Colubridae*

Subfamília *Colubrinae*
Dasypeltinae *
Acrochordinae *
Xenoderminae (veja mais adiante)
Pareinae *
Dipsadinae
Calamarinae *
Sibynophinae *
Homolopsinae *

Família *Elapidae*

Subfamília *Elapinae*
Dendroaspinae *

Família *Hydrophidae*

Subfamília *Hydrophinae* *
Laticaudinae *

Família *Viperidae*

Subfamília *Atractaspidinae* *
Subfamília *Viperinae* *
Crotalinae

Ordem SERPENTES

Subordem *SCOLECOPHIDIA*

Serpentes adaptadas à vida subterrânea caracterizadas: por ossos cranianos fortemente unidos inclusive na região rostral; quadrato dirigido para frente; supra-temporal ausente ou muito reduzido; foramen óptico no frontal; epífises neurais ausentes; hipapófises ausentes; vestígios da cintura pélvica, sem esporões visíveis externamente; fígado fortemente lobado; somente um oviduto (direito); células visuais todas em forma de bastonetes.

Os representantes das duas famílias desta subordem, conhecidas no Brasil como *Cobras-cegas* ou *Mãe da sauva*, são ofídios de pequeno porte e de vida subterrânea. Alimentam-se de cupins e formigas. São ovíparos com poucas exceções e ocorrem na América tropical, sudeste dos Estados Unidos, África, extremo sudeste da Europa e Ásia.

Família *Typhlopidae*

Maxilar móvel, provido de alguns dentes e situado transversalmente; pulmão traqueal presente.

* Extraterritorial.

Subfamília *Typhlopinae*

Ectopterigóide ausente; dental reduzido e edentado; ossos circumorbitais ausentes; hióide em Y; esplenial presente, alcançando a ponta da mandíbula; glândula nasal recoberta pelo prefrontal; cintura pélvica reduzida.

Subfamília *Anomalepinae*

Ectopterigóide presente; dental bem desenvolvido; hióide em W; ossos circumorbidais presentes; esplenial ausente; cintura pélvica ausente; glândula nasal exposta.

Família *Leptotyphlopidae*

Maxilar solidamente fixado ao crânio; maxilar edentado; dental com alguns dentes; postorbital ausente; articulação intermandibular; hióide em V.

Subordem *HENOPHIDIA*

Quadrato dirigido para trás; coronóide presente; supra-temporal bem desenvolvido; foramen óptico geralmente entre o frontal e parietal; hipófises neurais presentes; um par de ovidutos.

Família *Aniliidae*

Premaxilar suturado com maxilar; supraocular ausente; hipapófises anteriores ausentes; supratemporal pequeno não expandido além do contorno do crânio; músculo *levator anguli oris* presente; esporões pélvicos presentes, pelo menos nos machos; premaxilar provido de dentes; dentes palatinos bem desenvolvidos.

Dos três gêneros, um, *Anilius scytale* (Coral d'água) ocorre na América do Sul; os outros dois, *Cylindrophis* e *Anomochilus* ocorrem no sudeste asiático; são ovovivíparos.

Família *Uropeltidae*

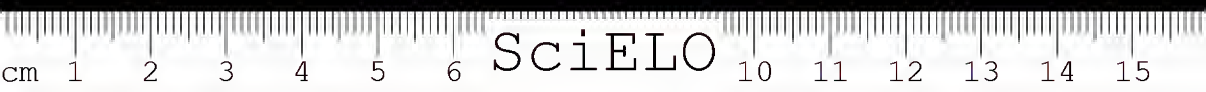
Premaxilar suturado com maxilar; supraocular ausente; hipapófises anteriores ausentes; sem vestígios de cintura pélvica; músculo *levator anguli oris* presente.

Como o nome indica, as serpentes pertencentes a essa família são caracterizadas pela presença de escamas modificadas na ponta da cauda extremamente curta.

São fossoriais e restritos a Península Indiana e Ceilão.

Família *Xenopeltidae*

Premaxilar desdentado em contato com os maxilares; coronóide presente; angular ausente; supraocular ausente; hipapófises anteriores ausentes; supratemporal ultrapassando o contorno craniano; dental frouxamente articulado



com o surangular que é muito alongado; sem vestígios de membros posteriores. Músculo *levator anguli oris* presente.

A família *Xenopeltidae* contém um gênero com uma única espécie: *X. unicolor* e ocorre na Ásia.

Família *Boidae*

Premaxilar livre; hipapófises anteriores presentes; supratemporal grande; postorbital presente.

Subfamília *LOXOCEMINAE*

Esta subfamília parece estruturalmente intermediária entre os *Boídeos* e *Anilídeos — Uropeltídeos.*

Supraorbital presente; premaxilar provido de dentes; supratemporal não incluído no crânio; coronóide presente; pélvis composto de dois ossos além do fêmur.

O único gênero desta subfamília tem hábitos semi-subterrâneos. Músculo *levator anguli oris* presente.

Loxocemos é encontrado na América Central e pouco se conhece sobre os seus hábitos além de seus hábitos fossoriais.

Subfamília *Pythoninae*

Supraorbital presente; processo interno do palatino longo; hipapófises somente na parte anterior da coluna vertebral; foramen lacrimal completamente fechado; prefrontais não em contato; premaxilar provido de dentes; músculo *levator anguli oris* ausente.

A esta subfamília pertencem os pitons típicos do Velho Mundo.

Subfamília *Boinae*

Esta subfamília se assemelha bastante a *Pythoninae* mas, o supraorbital é ausente; o processo interno do palatino é curto; o foramen lacrimal é aberto ventralmente; os prefrontais estão em contato; premaxilar desdentado; pulmão traqueal ausente. Musculo *levator anguli oris* ausente.

São as Boas (jibóias) típicas do Novo Mundo facilmente reconhecidas pela presença de vestígios de membros posteriores; compreendem duas subfamílias: boíneos e tropidofíneos. Os boíneos tem esporões cloacais (vestígio de membros posteriores) bem visíveis, principalmente nos machos e dois pulmões (o esquerdo ligeiramente menor). Todos matam a presa por constricção. Não são perigosos para o homem, exceção feita à sucuri, que é temida por sua força. Embora os relatos de sucuri que devorou um boi sejam inverídicos, uma sucuri de 5 ou mais metros pode engolir um homem ou mesmo um pequeno bezerro. Os boídeos põem filhos vivos (até uma centena). As espécies brasileiras pertencem aos gêneros *Boa, Eunectes, Epicrates* e *Corallus.* A *Boa constrictor* é a jibóia, encontrada em todo Brasil, salvo no extremo sul. Ali-

menta-se de roedores e aves. Os representantes do gênero *Epicrates* são conhecidos como salamanta (às vezes, no Maranhão e Regiões Amazônicas, como surucucu-de-fogo). Parecem-se às jibóias, porém são mais escuras e tem ocelos ou círculos no dorso. Alimentam-se de roedores e excepcionalmente de pássaros. Existem no Brasil várias espécies do gênero *Eunectes*. A maior (*Eunectes murinus*) é conhecida como sucuri ou sucuriju e atinge mais de 11 metros. Todas as espécies são semi-aquáticas e vivíparas. A sucuri come patos e outras aves aquáticas, roedores, veados, pacas e até pequenos jacarés. A sucuri enrola-se na presa para matá-la, levando-a rapidamente para baixo d'água. Há quatro espécies de *Eunectes* no Brasil: *E. murinus* encontrada em parte da Bacia do Paraná e na Bacia Amazônica; *E. notaeus*, a sucuri-amarela ou lampalágua, do Pantanal do Mato Grosso e Bacia do Paraná; *E. dechauenseei* e *E. barbouri*, da Ilha do Marajó. *Corallus caninus*, ou periquitambóia é arborícola, de cabeça bem distinta do pescoço e pupila vertical; alimenta-se de roedores e pássaros. De cor verde com algumas manchas brancas; é temida nas regiões amazônicas, embora se trate de serpente absolutamente inofensiva, provavelmente por que sua cor e a cabeça tringular a confunde com uma serpente venenosa, que, embora rara, ocorre nas mesmas regiões, a *Bothrops billineatus smaragdinus* ou cobra-papagaio.

Subfamília *Tropidophinae*

Externamente próxima às *Boinae* das quais se distingue por: rim liso, um só pulmão além do traqueal.

Esta subfamília apresenta muitos caracteres que a aproxima dos Colubrídeos.

Os membros da subfamília dos tropidofíneos são serpentes de pequeno porte, muito raras, conhecidas no Brasil apenas por uma espécie, *Tropidophis paucisquamis*, da Serra do Mar.

Subfamília *Erycinae*

Similar aos *Boinaes*: prefrontal confinado à parte lateral do crânio; premaxilar bem em frente dos maxilares ao invés de situada entre os maxilares; vértebras caudais posteriores com epifises neurais divididas e processo acessório lateral; pulmão traqueal ausente.

Esta subfamília é representada por formas fossoriais ou habitantes de cupins. Na Ásia e Polinésia.

Subfamília *Bolyerinae*

Hipapófises posteriores presentes; maxilar dividido; sem vestígios de cintura pélvica; pulmão traqueal ausente.

Os representantes dessa família são formas semi-fossoriais restritas e Ilha de Madagascar e Mauritius.

Infraordem *Caenophidia*

Coronóide ausente; foramen óptico geralmente entre frontal-parietal e parasfenóide; vértebras com epifises neurais; somente carótida comum esquerda; o postorbial não alcança nem o maxiliar, nem o ectopterigóide; parietal e frontal não se encontram por baixo do foramen óptico; premaxilar edentado; Não há vestígios de cintura pélvica.

Família *Colubridae*

Esta família contém a maioria dos gêneros de serpentes conhecidas.

É, sem duvida, a família mais heterogênea, incluindo inúmeros gêneros. Muitas tentativas foram feitas para subdividi-la, mas, até o momento, salvo para algumas subfamílias, nenhuma das tentativas pode ser considerada como plenamente satisfatória.

Subfamília *Colubrinae*

Colubridae pouco especializados; o supratemporal frouxamente articulado com o crânio. É a subfamília que inclui a maioria de serpentes conhecidas. Seus representantes adaptaram-se aos hábitos mais diversos: aquáticos, arborícolas, terrestres e subterrâneos. São praticamente inofensivas (salvo algumas opistóglifas) e de porte pequeno ou médio. Não há vestigios de membros posteriores; o pulmão esquerdo desapareceu por completo. Geralmente tem dentes nos maxilares, pterigóides, palatinos e mandíbulas, mas nunca no intermaxilar. Podem ser áglifas ou opistóglifas. Como é de esperar numa família abrangendo tão elevado número de espécies, também seus hábitos alimentares variam enormemente, e incluem: vermes, lesmas, artrópodes, roedores e outros mamíferos, aves, peixes, anfíbios e ovos. Algumas são ofiófagas (mussurana, papa-pinto, etc.). São ovovivíparas, ovíparas ou vivíparas.

Subfamília *Dasypeltinae*

As hipapófises da região nucal atravessam a parede do esôfago, dentes muito pequenos. Supratemporal e quadrato solidamente unidos; o complexo rostral firmemente associado com o crânio.

Esta subfamília contém gèneros que são todos ovífagos. Como as hipapófises atravessam o esôfago, a casca do ovo é facilmente quebrada por contração dos músculos.

São formas Asiáticas e Africanas.

Subfamília *ACROCHORDINAE*

Postorbital expandido para frente em cima da órbita. Um processo lateral do frontal se expande lateralmente e para baixo formando uma crista orbital anterior; prefrontal muito pequeno; supratemporal e quadrato firmemente unidos. Foramen óptico no parietal; hipapófises presentes em toda extensão do corpo; cauda curta e achatada; músculo *levator anguli oris* ausente.

Asiáticas, aquáticas.

HOGE, A. R. e ROMANO, S. A. — Sinopse das serpentes peçonhentas do Brasil. *Mem. Inst. Butantan*, *36*: 109-208, 1972.

Subfamília *Xenoderminae*

Muito afins dos *Acrochordinae*, mas, as vértebras geralmente com uma expansão lateral das epífises neurais.

Formas orientais aquáticas: duas formas do Novo Mundo. Uma, *Xenopholis* ocorre no Brasil sendo extremamente rara nas coleções (há dúvida quanto a posição sistemática exata deste gênero).

Subfamília *Pareinae*

Supratemporal muito pequeno; quadrato desenvolvido, articulado com ossos óticos; hipapófises posteriores ausentes; maxilar edentado anteriormente (menos do 6 dentes maxilares); ectopterigóide não bifurcado. Dental sem sulco mental; músculo *levator anguli oris* envolvendo a glândula supralabial; sulco mentual ausente.

Formas asiáticas. Alimentam-se de lesmas.

Subfamília *Dipsadinae*

Próxima à *Pareinae* mas, maxilar com 10 ou mais dentes; ectopterigóide fortemente bifurcado; sulco mentual presente no dental. Músculo *levator anguli oris* não envolve a glândula supralabial.

Formas do Novo Mundo paralelas com as *Pareinae* do continente asiático.

À subfamília dos dipsadíneos pertencem tres gêneros brasileiros de dormideiras ou jararacas-preguiçosas: *Dipsas, Sibynomorphus* e *Sibon*.

Os representantes desta subfamília alimentam-se de lesmas.

Subfamília *Calamarinae*

Foramen óptico entre frontal e parasfenóide; supratemporal muito reduzido; quadrato articulado com os ossos óticos; hipapófises posteriores ausentes; processo ascendente do septomoxilar alcança as nasais.

Formas Asiáticas.

Subfamília *Sibynophinae*

Dental livre; hipapófises posteriores presentes; dentição peculiar com dentes pequenos, fortes e achatados lateralmente.

Asiáticas e central Americanas.

Subfamília *Homalopsinae*

Colubrídeos opistóglifos; foramen óptico pequeno; hipapófises posteriores presentes; processo maxilar do palatino ausente; hemipênis dividido; fossetas apicais ausentes; tuberculos no crânio e ventre.

Formas aquáticas (água doce e estuárias); alimentam-se geralmente de peixes.

Restritas à região das Indias Orientais.

Família *Elapidae*

Aspecto geral de Colubrideo (salvo em certas formas Australianas) mas proteróglifos. Maxilar bastante reduzido; presas fortemente sulcadas ou canaliculadas; sulcos espermáticos bifurcados; fossetas apicilares ausentes.

Subfamília *Elapinae*

Maxilar curto e sem processo posterior; dental sem presa anterior aumentada; cauda normal; formas terrestres ou de água doce.

A esta subfamília pertencem as Naja, Kraits, Taipan, etc., Nas Américas está representada pelas cobras corais verdadeiras.

Ásia, África, Austrália e Américas.

Subfamília *Dendroaspinae*

Difere bastante dos *Elapinae* pela presença de um processo posterior no maxilar; maxilar longo, apesar de ter somente a presa; maxilar bastante móvel.

Forma estritamente Africana. São as famigeradas "Mambas", serpentes ágeis e extremamente agressivas.

Família *Hydrophidae*

Proteróglifas; diferem das Elapinae por terem a parte posterior do corpo e a cauda achatadas lateralmente.

As vértebras caudais, com os processos neurais e hemais fortemente desenvolvidos.

Formas marinhas (às vêzes encontradas à grande distância das costas). Regiões tropicais do Oceano Pacífico. Não encontradas até o momento no Oceano Atlântico (salvo o extremo sul da Costa Africana).

Subfamília *Hydrophinae*

Maxilar curto não ultrapassando o palatino.

Subfamília *Laticaudinae*

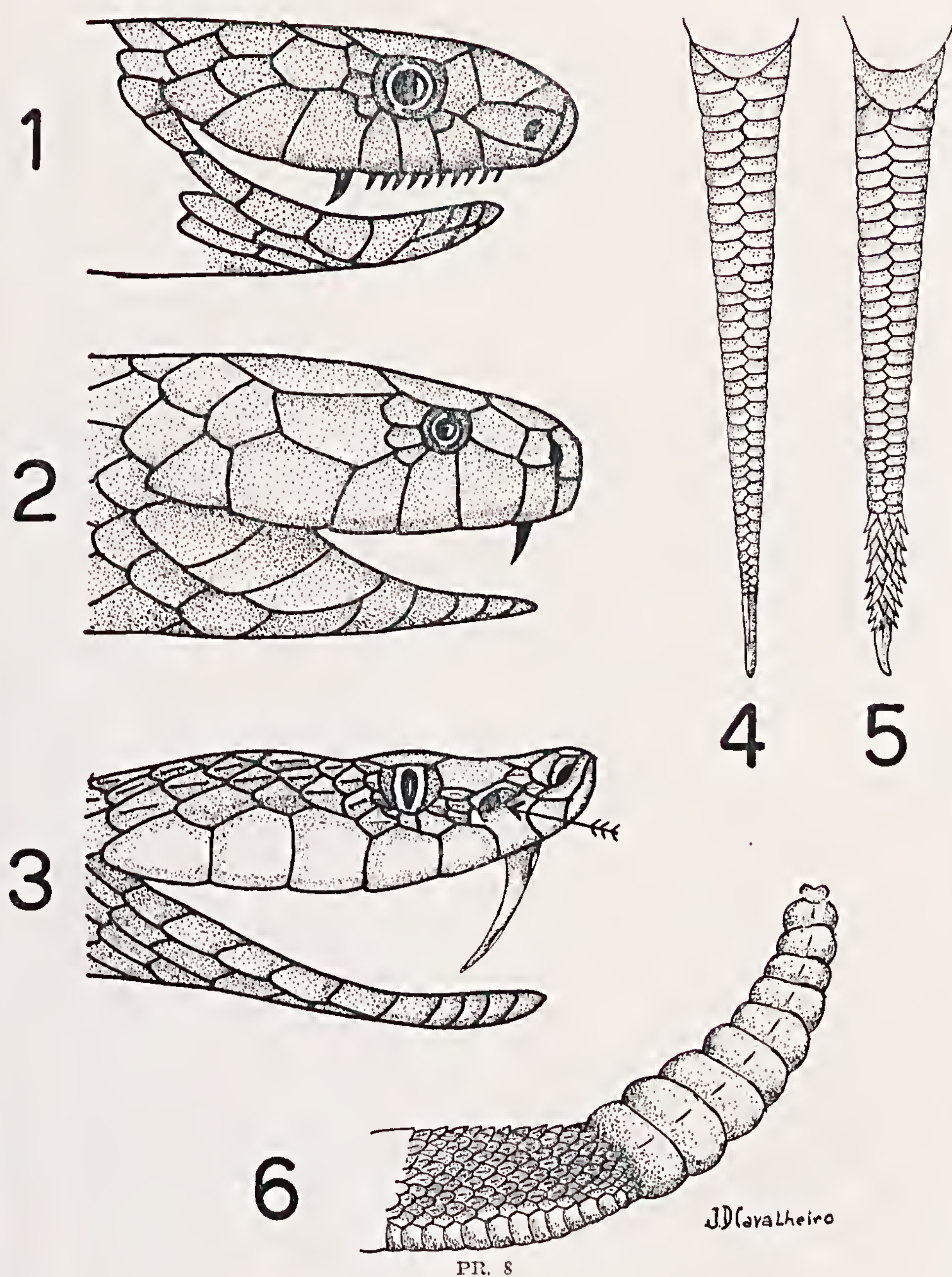
Maxilar projetando-se para frente; além do palatino.

Família *Viperidae*

Solenóglifas; maxilar muito curto, mas alto, verticalmente eréctil com uma única presa (e as de substituição); hipapófises presentes em todo o corpo.

Europa, Ásia, Índias Ocidentais, África e Américas.





PR. 8

Fig. 1 — Serpente Opóstoglifa
Fig. 2 — Serpente proteroglifa
Fig. 3 — Serpente Solenoglifa
Fig. 4 — Cauda normal
Fig. 5 — Cauda de *Lachesis muta*
Fig. 6 — Cauda de *Crotalus*

Subfamília *Atractaspidinae*

Foramen òptico entre frontal e parietal; maxilar não escavado; palatino com processo coanal e maxilar; músculo *levator anguli oris* ausente; pulmão traqueal ausente. Outros caracteres, além dos acima mencionados, sugerem que as *Atractaspidinae* são talvez mais próximas das *Elapidae*, do que das *Viperidae*.

África e Oriente Médio, até Israel.

Hábitos subterrâneos.

Subfamília *Viperinae*

Maxilar não escavado; foramen óptico formado pelo frontal, parietal e paraesfenóide. Palatino sem processo coanal ou maxilar; músculo *levator anguli oris* presente; pulmão traqueal presente.

A esta subfamília pertencem as víboras.
Europa, Ásia e África.

Subfamília *Crotalinae*

Maxilar escavado para conter a fosseta loreal.

Subfamília distribuída na Ásia, Índias Orientais e América, até a Argentina.

Há autores que consideram como válidos um maior número de taxa acima de gênero, do que na classificação aqui adotada.

CHAVE PARA OS GÊNEROS DE SERPENTES PEÇONHENTAS DO BRASIL

I — Fosseta loreal presente — Cobra peçonhenta (fig. 3)

1 Chocalho presente — *Crotalus* (cascavel) (fig. 6)

2 Chocalho ausente (figs. 4-5)

a) ponta da cauda com escamas eriçadas — *Lachesis* (surucucu) (fig. 5)

b) ponta da cauda normal — *Bothrops* (jararaca) (fig. 4)

II — Fosseta loreal ausente (figs. 1-2)

1 Escamas dorsais em 15 fileiras

a) sem presas anteriores — Cobra não peçonhenta (fig. 1)

b) com presas anteriores — *Micrurus* (coral verdadeira) (fig. 2)



HOGE, A. R. e ROMANO, S. A. — Sinopse das serpentes peçonhentas do Brasil. *Mem. Inst. Butantan, 36*: 109-208, 1972.

Família *Elapidae*

Somente uma das subfamílias ocorre no Brasil, onde é representada por um único gênero, *Micrurus*, conhecido popularmente como Cobra Coral Verdadeira.

Subfamília *Elapinae*

Gênero *Micrurus*

Das 105 formas conhecidas de *Micrurus*, 33 ocorrem no Brasil.

Contrariamente ao que se pensa, nem todas as corais são serpentes pequenas. Algumas espécies alcançam mais de um metro. *Micrurus spixii* chega a 1,50m.

Alimentam-se em geral de ofídios. Quando molestada a coral enrola a cauda, e, ao mesmo tempo que agita freneticamente a mesma, esconde a cabeça por baixo do corpo, atitude que confunde o observador, que pensa que se trata da cauda.

Essa particularidade não é, todavia, exclusiva das corais, mas de muitos outros gêneros, principalmente os de cores vivas, que agem do mesmo modo.

Frequentemente este comportamento tem sido considerado como mimetismo, mas é pouco provável que seja mimetismo, principalmente se considerarmos que não somente as corais verdadeiras como outros gêneros com os mesmos hábitos são geralmente de vida subterrânea ou noturnos.

Nem todas as espécies apresentam os anéis vermelhos típicos do gênero. Às vezes o vermelho é obliterado por pigmentação preta, outras espécies não tem anéis vermelhos e outras, ainda, nem anéis apresentam.

As cobras corais verdadeiras são encontradas em todo o território brasileiro.

CHAVE PARA AS ESPÉCIES DO GÊNERO MICRURUS

A — Anéis pretos não dispostos em tríadas (Pr. 6 fig. 11 e Pr. 7 fig. 17).

I — Cabeça preta, incluindo parte ou todas as parietais, sem colar branco transversal passando nas parietais ou imediatamente atrás. (Pr. 1 fig. 1, 3 e 5.)
Sinfisial não em contato com as mentais anteriores. (Pr. 4 fig. 1).

1 — Anéis vermelhos muito mais largos do que os pretos (Pr. 1 fig. 3 e 5).

a — Anéis vermelhos extremamente largos, o primeiro ocupando mais do que 23 escamas vertebrais; sem anel negro atrás das parietais. (Pr. 1, fig. 3) .... *averyi*

b — não como em a. (Pr. 1, fig. 5) .... *corallinus*

2 — Anéis vermelhos iguais ou menores do que os pretos;

a — Cabeça com algumas manchas claras nas escamas supracefálicas; 32-67 anéis pretos nos machos; 35-79 nas fêmeas (Pr. 4, fig. 1) *langsdorfii*

b — Cabeça, geralmente, inteiramente preta; mais do que 74 anéis pretos nos machos e mais do que 84 nas fêmeas (Pr. 1, fig. 1) ...... *albicinctus*

II — Cabeça preta, com colar nucal branco transversal na cabeça, ocupando pelo menos parte das parietais ou imediatamente atrás (Pr. 1 fig. 4 e Pr. 4 fig. 4)

1 — Sinfisial largamente em contato com as mentuais anteriores; anéis vermelhos geralmente ausentes; quando presentes, muito estreitos dorsalmente

a — Colar nucal branco atravessa as parietais (Pr. 4, fig. 4)

a_1 — mais do que 230 ventrais .... *narduccii*

a_2 — menos do que 225 ventrais .... *karlschmidti*

b — Colar nucal branco situado atrás das parietais (Pr. 1, fig. 4) *collaris*

2 — Sinfisial separada das mentuais anteriores; anéis presentes, os espaços vermelhos largos, mais do que 20 anéis pretos no corpo, orladas de branco (Pr. 1, fig. 2) .... *annellatus*

B — Com tríadas de anéis pretos (às vezes fundidas formando grupos de 5 anéis pretos), separados por vermelho no corpo

I — Anal inteira .... *hemprichii*

II — Anal dividida

1 — Primeira tríada representada por dois anéis (Pr. 5, fig. 1-3 Pr. 2 fig. 1)

a — Menos do que 10 tríadas no corpo; primeiras subcaudais inteiras; temporais 1+1; faixa internasal branca ausente (Pr. 5 fig. 1-3) ......*spixii*

b — Mais do que 9 tríadas no corpo; primeiras subcaudais divididas; temporal 0+1; faixa internasal branca presente (Pr. 2 fig. 1) .... *decoratus*

2 — Primeira tríada completa (Pr. 3 fig. 1 a 5 e Pr. 2 fig. 2e 3; Pr. 4 fig. 2 e 3 e Pr. 5 fig. 4 e 5.)

a — Escamas cefálicas todas vermelhas com bordos pretos; frontal muito estreita, mais do que as supraoculares: 6-9 tríadas no corpo *surinamensis*

b — Não como em a, frontal mais larga do que as supraoculares.

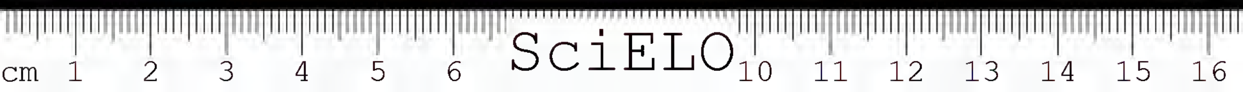
b_1 — Mais do que 270 ventrais; 14-20 tríadas no corpo .... *filiformis*

b_2 — Menos do que 269 ventrais

α Focinho preto, faixa internasal branca, geralmente bem delineada; as primeiras dorsais vermelhas com ápices pretos, apenas perceptíveis ou ausentes

* Menos do que 28 subcaudais; geralmente menos do que 25; 7-9 tríadas nos machos e 7-10 nas fêmeas .... *ibiboboca*

** Subcaudais mais do que 27, geralmente mais do que 30 (excepcionalmente 8) .... *lemniscatus*



β Geralmente, algumas manchas brancas no focinho, faixa internasal branca ausente; se presente, irregular e estreita, manchada de preto e cobrindo parte da prefrontal; todas ou pelo menos a parte posterior das parietais pretas. Primeiras dorsais vermelhas com ápices pretos bem delineados (Pr. 3 fig. 1-4) .... *frontalis*

Micrurus albicinctus Amaral Pr. I fig. 1

1926 *Micrurus albicinctus* Amaral, Comm. Linh. Telegr. Mato Grosso, Publ. 84 Annex 5: 26, figs. 7-10

1938 *Micrurus waehnerorum* Meise, Zool. Anz., *123*: 20

1971 *Micrurus albicinctus;* Hoge et Romano, Ven. An and their Venoms, 2: 213.

Localidade tipo: Não mencionada; como o tipo foi coletado durante a instalação telegráfica da linha do Mato Grosso, é provável que o espécime provém das matas Amazônicas, do extremo noroeste do Mato Grosso ou Rondônia.

Distribuição: Conhecido somente da localidade tipo e São Paulo de Olivença, Amazonas, Brasil.

Micrurus annellatus (Peters)

1871 *Elaps annellatus* Peters, Monat, Akad. Wiss. Berlin 1871: 402

1929 *Micrurus annellatus;* Amaral, Mem. Inst. Butantan, 4: 228

Localidade tipo: Pozuzu, Peru

Distribuição: Vertentes Amazônicas dos Andes, do Equador até Amazônia, Brasil.

Quatro subsp. das quais uma registrada para o Brasil.

CHAVE PARA AS SUBSPÉCIES

A — Machos com menos do que 41 anéis pretos no corpo; fêmeas com menos do que 49.

1 — Uma postocular; anéis pretos ocupando de 4-5 ventrais .... *balzani*

2 — Duas postoculares:

a — faixa branca cobrindo menos do que 50% das parietais; temporais geralmente 1-2; anéis pretos ocupando 2-3 ventrais (Pr. 1 fig. 2) *bolivianus*

b — faixa branca cobrindo mais do que 50% das parietais; temporais geralmente 1-1 .... *montanus*

B — Machos com 41-61 anéis pretos no corpo; fêmeas com 49-83.. *annellatus*

Micrurus annellatus bolivianus Roze (Pr. 1 fig. 2).

1967 *Micrurus annellatus bolivianus* Roze, Amer. Mus. Novitates, 2287:7, fig. 2

1969 *Micrurus annellatus bolivianus;* Hoge et Romano, Ciência e Cultura *21*, (2): 454

Localidade tipo: Rio Charobambo, 50 km ao nordeste de Zudañez, Chuquisaca, Bolivia.
Distribuição: Bolivia ocidental e Amazonas, Brasil.

Micrurus averyi Schmidt (Pr. 1 fig. 3).

1939 *Micrurus averyi* Schmidt, Zool. Ser. Field. Mus. Nat. Hist., *24;* 6: 45, fig. 5
Localidade tipo: Cabeceiras do Itabu, Distrito de Couratyne, Guyana, 2.000 pés alt. (Perto da fronteira do Brasil).
Distribuição: Conhecida da localidade tipo e região de Manaus, Amazonas Brasil.

Micrurus collaris (Schlegel) Pr. 1 fig. 4

1837 *Elaps collaris Schlegel*, Essai Physion. Serpens, 2s 448
1854 *Elaps gastrodelus* Duméril, Bibron et Duméril Erp. Gén., *7*: 1212
1937 *Leptomicrurus collaris;* Schmidt, Zool. Ser Field Mus. Nat. Hist., *20*: 261
1972 *Micrurus collaris;* Romano, Mem. Inst. Butantan, *35:* 112. 1971 (dist. Mar. 1972)
Localidade tipo: Designada como as Guianas, (Hoge et Romano 1966)
Distribuição: Sudeste da Venezuela, as Guianas e Estado do Pará, Brasil

Micrurus corallinus (Merrem) Pr. 1 fig. 5

1820 *Elaps corallinus* Merrem, Tent. Syst. Amph.: 144
1820 *Coluber corallinus* Raddi, Mem. Soc. Italiana Sci. Modena, *18:* 336
1925 *Micrurus corallinus;* Amaral, Proc. U. S. Nat. Mus., *67;* 24:20
1967 *Micrurus corallinus;* Roze, Amer. Mus. Novit., 2287: 13 (atribui a autoria da espécie a Merrem ao invés de Wied)
Localidade tipo: Rio de Janeiro, Cabo Frio, Brasil.
Distribuição: Argentina (Missiones); Uruguai; Brasil. Desde o sul da Região Amazônica no Brasil até Uruguai e Nordeste de Missiones na Argentina. (A ocorrência no Uruguai necessita de confirmação).

Micrurus decoratus (Jan) Pr. 2 fig. 1

1858 *Elaps decoratus* Jan, Rev. Mag. Zool., 10 (2): 525, pr. B.
1921 *Elaps fischeri* Amaral, Anéxo Mem. Inst. Butantan, 1 (1): 59; (pr. 2, fig. 1-5).
1922 *Elaps ezequieli* Lutz et Mello, Inst. Oswaldo Cruz, *15*: 235,pr. 31
1926 *Micrurus decoratus;* Amaral, Rev. Mus. Paulista, *14:* 32
Localidade tipo: Méxieo (in error). Restrita "hoc loco" como: Serra da Bocaina, São Paulo, Brasil.
Distribuição: Brasil, Estado do Rio de Janeiro até Santa Catarina. Um único exemplar do "Rio Grande do Sul" sem maiores dados.



Micrurus filiformis (Günther)

1859 *Elaps filiformis* Günther, Proc. Zool. London, *1859:* 86, pr. 18, fig. b

1925 *Micrurus filiformis;* Amaral, Proc. U. S. Nat. Mus., *67* (24): 19

Localidade tipo: Pará, Brasil.

Distribuição: Região Amazônica, extremo sul da Colômbia e norte do Perú.

Duas subsp., ambas registradas para o Brasil.

CHAVE PARA AS SUBSPÉCIES

A — Duas postoculares; ventrais 274-279 nos machos .... *subtilis*

B — Geralmente uma postocular; ventrais 283-309 nos machos .. *filiformis*

Micrurus filiformis filiformis Günter (Pr. 2 fig. 2).

1967 *Micrurus filiformis filiformis;* Roze. Amer. Mus. Novit., 2287:22

Distribuição: Região Amazônica, Brasil, sul da Colômbia até norte do Peru.

Micrurus filiformis subtilis Roze (Pr. 2 fig. 3).

1967 *Micrurus filiformis subtilis* Roze, Amer. Mus. Novit., 2287: 22, fig. 8

Localidade tipo: Caruru, Rio Vaupés, fronteira Brasil-Colômbia.

Distribuição: Colômbia, Províncias de Vaupés e Amazonas; Brasil, Uaupés, Amazonas.

Micrurus frontalis (Duméril, Bibron et Duméril).

1854 *Elaps frontalis* Duméril, Bibron et Duméril, Erp. Gén., 7 (2): 1223

1925 *Micrurus frontalis;* Amaral, Proc. U. S. Nat. Mus., *67* (24): 19

Localidade tipo: Corrientes e Missiones, Argentina.

Distribuição: América do Sul, a leste dos Andes entre os P. 10° e 35° S

Cinco subspécies: das quais, quatro registradas para o Brasil.

CHAVE PARA AS SUBSPÉCIES

A — Menos de nove tríadas, a primeira separada das parietais por, pelo menos, 7 escamas vertebrais vermelhas; o anel mediano muito mais largo do que os externos .... *pyrrhocryptus*

B — Mais do que nove tríadas, a primeira separada das parietais por menos do que 7 escamas vertebrais vermelhas

1 — Subcaudais 16-18 nas fêmeas, ventrais 223-242 nos machos; internasais e prefrontais claras .... *brasiliensis*

2 — Subcaudais mais do que 18 nas fêmeas; geralmente, menos do que 223 ventrais nos machos; internasais e prefrontais escuras

a — 192-216 ventrais nos machos; parte anterior das parietais com uma mancha clara irregular; cabeça escura por baixo .... *altirostris*
b — Geralmente mais do que 215 ventrais nos machos; parietais inteiramente pretas ou com faixa branca transversal estreita; cabeça com somente algumas manchas pretas por baixo
b¹ — Ventrais 215-222 nas fêmeas, anel preto mediano muito mais largo do que os externos; cabeça com faixa transversal branca estreita .... *mesopotamicus* *
b² — Ventrais 222-242 nas fêmeas; anel preto mediano igual ou apenas ligeiramente maior do que os externos; cabeça inteiramente ou quase inteiramente preta .... *frontalis*

Micrurus frontalis frontalis (Duméril, Bibron et Duméril) Pr. 3 fig. 1

1854 *Elaps frontalis* Duméril, Bibron et Duméril, Erp. Gén., 7, (2): 1223
1860 *Elaps baliocoryphus* Cope, Proc. Acad. Nat. Sci. Phil., *1859*: 346
1896 *Elaps frontalis;* Boulenger, [partim]. Cat. Sn. Brit. Mus., 3: 427
1925 *Micrurus frontalis;* Amaral, Proc. U. S. Nat. Mus., *67*, (24): 19
1936 *Micrurus frontalis frontalis;* Schmidt, Zool. Ser. Field Mus. Nat. Hist., *20*: 199
1944 *Micrurus lemniscatus frontalis* Amaral, Pap. Avul. Deptº Zool. São Paulo, *5*: (11): 92
1967 *Micrurus frontalis frontalis;* Roze, Amer. Mus. Novit., n.º 2287: 24

Localidade tipo: Corrientes e Missiones, Argentina

Distribuição: Sul do Brasil, Sul do Paraguai e regiões limítrofes da Argentina.

Micrurus frontalis altirostris (Cope) Pr. 3 fig. 2

1860 *Elaps altirostris* Cope, Proc. Acad. Nat. Sci. Phil., *1859*: 345
1887 *Elaps heterochilus* Mocquard, Bull. Soc. Philom., Ser. 7,11:39
1896 *Elaps frontalis;* Boulenger; [partim] Cat. Sn. Brit. Mus., 3: 427
1936 *Micrurus frontalis altirostris;* Schmidt, Zool. Ser. Field Mus. Nat. Hist., *20*: 199
1944 *Micrurus lemniscatus multicinctus* Amaral, Pap. Avul. Deptº. Zool. São Paulo, *5*: 91
1967 *Micrurus frontalis altirostris;* Roze Amer. Mus. Novit., n.º 2287:25

Localidade tipo: América do Sul.

Distribuição: Argentina, Nordeste da Província de Missiones, Uruguai e Sul do Brasil.

Micrurus frontalis brasiliensis Roze (Pr. 3 fig. 3).

1967 *Micrurus frontalis brasiliensis* Roze Amer. Mus. Novit, n.º 2287: 25; fig. 9

Localidade tipo: Barreiras, Bahia, Brasil

Distribuição: Sudeste do Brasil

* Extraterritorial.



Micrurus frontalis pyrrhocryptus (Cope) Pr. 3 fig. 4

1863 *Elaps pyrrhocryptus* Cope Proc. Acad. Nat. Sci. Phil., *1862*: 347
1902 *Elaps Simonsii* Boulenger Ann. Mag. Nat. Hist., Ser. 7, *9*: 338
1936 *Micrurus pyrrhocryptus;* Schmidt Zool. Ser. Field Mus. Nat. Hist., *20* (27): 199
1944 *Micrurus lemniscatus frontalis;* Amaral, [partim] Pap Avul. Dept° Zool. São Paulo, *5* (11): 92
1953 *Micrurus frontalis pyrrhocryptus;* Shreve, Breviora, n.° 16: 5
1956 *Micrurus tricolor* Hoge, Mem. Inst. Butantan, *27*: 67, figs. 1-6
1960 *Micrurus pyrrhocryptus;* Hoge et Lancini, Mem. Inst. Butantan, (1959) *29*: 12
1697 *Micrurus frontalis pyrrhocryptus;* Roze, Amer. Mus. Novit., n.° 2287: 26

Localidade tipo: Rio Vermejo, Argentina (Chocó Argentino, segundo Roze)

Distribuição: Brasil, sudoeste do Mato Grosso; Bolivia, oeste e sudoeste; regiões adjacentes do Paraguai, ao sul até Mendonza e Santa Fé, Argentina.

Micrurus hemprichii (Jan)

1858 *Elaps hemprichii* Jan, Rev. Mag. Zool. *10* (2): 523.
1929 *Micrurus hemprichii;* Amaral, Mem. Inst. Butantan, 4: 230

Localidade tipo: Colômbia

Distribuição: Da Colômbia e sul da Venezuela através da Guianas, Amazonas, Brasil até Equador e Peru.

Duas subspécies, ambas registradas para o Brasil.

CHAVE PARA AS SUBESPÉCIES

A — 5-6 tríadas; ventrais 184-191 nos machos .... *ortoni*

B — 7-10 tríadas; ventrais 159-184 nos machos .... *hemprichii*

Micrurus hemprichii hemprichii (Jan) Pr. 2 fig. 4

1858 *Elaps hemprichii* Jan, Rev. Mag. Zool., *10*, n.° 2:523
1896 *Elaps hemprichii;* Boulenger, Cat. Sn. Brit. Mus., *3*: 421
1925 *Micrurus hemprichii;* Amaral, Proc. U. S. Nat. Mus., *67* n.° 24: 17
1953 *Micrurus hemprichii hemprichii;* Schmidt, Fieldiana, Zool., *34* (30): 166; fig. 31 (Apud Jan Icon. Gén., 42, pr. 4 fig. 3)
1972 *Micrurus hemprichii hemprichii;* Hoge et Romano, Mem. Inst. Butantan, *35*: 108 (1971, distr. Mar. 1972)

Localidade tipo: Colômbia

Distribuição: Colômbia oriental, sul da Venezuela, as Guianas e Brasil (Conhecida do Pará e Amazonas, Manaus)

Micrurus hemprichii ortoni (Schmidt) Pr. 2 fig. 5

1953 *Micrurus hemprichii ortoni* Schmidt, Fieldiana, Zool., *34*, n.º 30: 166

1972 *Micrurus hemprichii ortoni;* Hoge et Romano, Mem. Inst. Butantan, 35: 108 (1971, distr. Mar. 1972)

Localidade tipo: Pebas, Peru.

Distribuição: Vertentes Amazônicas da Colômbia, Equador e Peru; Brasil (Alto Amazonas).

Micrurus ibiboboca (Merrem) Pr. 3 fig. 5

1820 *Elaps ibiboboca* Merrem, Tent. Syst. Amph.,: 142

1820 *Elaps marcgravii* Wied, Nova Act. Acad. Leop. Carol., *10:* 109

1896 *Elaps marcgravii;* Boulenger, Cat. Sn. Brit. Mus., *3:* 428

1926 *Micrurus ibiboboca;* Amaral, Rev. Mus. Paul., 15:7 e 29

Localidade tipo: Brasil

Distribuição: Nordeste do Brasil

Micrurus Karlschmidti Romano (Nom. nov.)

1966 *Leptomicrus schmidti* Hoge et Romano (error typographicus pro *Leptomicrurus Schmidt*) — Mem. Inst. Butantan, *32:* 1-9, pr. 2, fig. 2; pr. 3, fig. 2a; pr. 4, fig. 2b.

1972 *Micrurus karlschmidti* Romano (nom. nov.) Mem. Inst. Butantan, *35:* 111-115, (1971, distr. mar. 1972)

Localidade tipo: Tapurucuara, Amazonas, Brasil.

Distribuição: Conhecido somente da localidade tipo.

Micrurus langsdorffi Wagler

1824 *Micrurus Langsdorffi* Wagler, in Spix, Sp. Nov. Serp. Bras.: 10, pr. 2, fig. 2

Localidade tipo: Rio Japurá; Amazonas-Brasil

Distribuição: Cabeceiras da Bacia Amazônica, do sul da Colômbia até o norte do Peru, regiões adjacentes do Equador e Amazônia ocidental.

Duas subsp.: uma registrada para o Brasil.

CHAVE PARA AS SUBSPÉCIES

A — Mais do que 40 anéis pretos no corpo .... *ornatissimus* *

B — Menos do que 36 anéis pretos no corpo .... *langsdorffi*

Micrurus langsdorffi langsdorffi Wagler Pr. 4 fig. 1

1824 *Micrurus Langsdorffi* Wagler, In Spix, Sp. Nov. Ser. Bras.; 10; pr. 2, fig. 2

* Extraterritorial.

1868 *Elaps batesi,* Günther, Ann. Mag. Nat. Hist., Ser. 4, *1:* 428; pr. 17-D
1869 *Elaps inperator* Cope, Proc. Acad. Nat. Sci. Phil., *1868:* 110
1896 *Elaps langsdorffi;* Boulenger, Cat. Sn. Brit. Mus., 3: 416
1935 *Micrurus mimosus* Amaral, Mem. Inst. Butantan, *9:* 221; fig. 6
1936 *Micrurus langsdorffi;* Schmidt [partim], Zool. Ser. Field Mus. Nat. Hist., *20:* 191
1955 *Micrurus ornatissimus;* (non Jan) Schmidt, Fieldiana, Zool., *34:* 345
1960 *Micrurus langsdorffi;* Peters; J. [partim], Bull. Mus. Comp. Zool. Harv., *122,:* 531
1967 *Micrurus langsdorffi langsdorffi;* Roze, Amer. Mus. Novit., n.º 2287: 30

Localidade tipo: Rio Japurá, Amazonas, Brasil.

Distribuição: Cabeceiras do Amazonas, da Colômbia ao norte do Peru e nordeste do Brasil.

Micrurus lemniscatus (Linnaeus)

1758 *Elaps lemniscatus* (Linnaeus), Syst. Nat. ed. 10: 224.
1919 *Micrurus lemniscatus;* Beebe, Zoologica, *2:* 216

Localidade tipo: Ásia (in error): restrita a Belém, Pará, Brasil. (Schmdit et Walker 1943). Roze 1967 considerou invalida a restrição por Schmidt e Walker por estar a localidade escolhida fora da área de distribuição de *Micrurus lemniscatus lemniscatus.*

Distribuição: Trinidad, Venezuela oriental, Guianas e bacia Amazônica. Cinco subspécies: tres registradas para o Brasil.

CHAVE PARA AS SUBSPÉCIES

A — Menos do que 226 ventrais nos machos; geralmente menos do que 243 nas fêmeas

1 — Praticamente todas as infralabiais brancas; 30-34 subcaudais nas fêmeas .... *frontifasciatus* *

2 — Somente algumas infralabiais pretas; subcaudais 32-41 .... *diutius* *

B — Mais do que 226 ventrais nos machos e mais do que 243 nas fêmeas

1 — Subcaudais 27-33 nas fêmeas; escamas vermelhas com poucas manchas pretas irregulares ou ápices pretos; faixas brancas estreitas (1-2 escamas) .... *carvalhoi*

2 — Geralmente mais do que 33 subcaudais nas fêmeas; escamas vermelhas sem manchas pretas ou somente com ápices pretos irregulares; faixas brancas, geralmente mais do que 4 escamas de largura

a — 9-11 tríadas no corpo .... *helleri*

b — 11-14 tríadas no corpo .... *lemniscatus**

* Extraterritorial.

Micrurus lemniscatus carvalhoi Roze Pr. 4 fig. 2

1967 *Micrurus lemniscatus carvalhoi* Roze, Amer. Mus. Novit., n.º 2287: 33; fig. 11

Localidade tipo: Catanduva, São Paulo, Brasil.

Distribuição: Brasil; Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso, Pernambuco, Bahia e Rio Grande do Norte.

Micrurus lemniscatus helleri Schmidt et Schmidt Pr. 4 fig. 3

1925 *Micrurus helleri* Schmidt et Schmidt, Zool. Ser. Field Mus. Nat. Hist., *12:* 129

1967 *Micrurus lemniscatus helleri;* Roze, Amer. Mus. Novit., n.º 2287: 35

Localidade tipo: Pozuzu, Huanuco, Peru

Distribuição: Regiões Amazônicas do Brasil; Sul da Venezuela, Colômbia, Equador, Peru e Bolívia.

Micrurus narducci (Jan) Pr. 4 fig. 4

1863 *Elaps narducci* Jan, Arch. Zool. Anat. Fisiol., *2:* 222

1869 *Elaps scutiventris* Cope, Proc. Am. Phil. Soc., *11:* 156

1881 *Elaps melanotus* Peters; Sitzb. Ges. Naturf Freunde Berlin, *1881*: 51

1937 *Leptomicrurus narducci;* Schmidt, Zool. Ser. Field Mus. Nat. Hist., *20:* 363

1972 *Micrurus narducci;* Romano, Mem. Inst. Butantan, 35: 112; (1971, distr. Mar. 1972), figs. 1 e 2

Localidade tipo: Bolívia.

Distribuição: Vertentes Amazônicas; dos Andes do Sul da Colômbia, Equador, Peru e Bolivia; Estado do Acre, Brasil.

Micrurus spixii Wagler

1824 *Micrurus spixii* Wagler, in Spix, sp. nov. Serp. Bras.: 48, pr. 18

Localidade tipo: Rio Solimões, Brasil.

Distribuição: Bacia Amazônica e sul da Venezuela.

Quatro subsp.: tres registradas para o Brasil.

CHAVE PARA AS SUBESPÉCIES

A — Primeiro anel preto aumentado e projetado para a frente, cobrindo 8 ou mais fileiras vertebrais .... *obscurus*

B — Primeiro anel preto não projetado para a frente, cobrindo menos do que 8 vertebrais

I — Cabeça com manchas claras, grandes; às vezes cobrindo todas as parietais, geralmente 2/3 + tríadas no corpo .... *princeps* *

2 — Cabeça totalmente preta ou com alguns pontos brancos; parietais pretas

a — 2/3 + 4-6 tríadas no corpo; ventrais 212-224 nas fêmeas ...... *spixii*

b — 2/3 + 6 tríadas no corpo; ventrais 218-226 nas fêmeas ...... *martiusi*

Micrurus spixii spixii Wagler Pr. 5 fig. 1

1824 *Micrurus spixii* Wagler, in Spix, Ser. Brasil, *48;* pr. 18

1896 *Elaps spixii;* Boulenger [partim], Cat. Sn. Brit. Mus., *3:* 427

1926 *Elaps ehrardti* Müller, Zool. Anz., 7/8:198

1943 *[Micrurus] spixii spixii;* Schmidt et Walker, Field Mus. Nat. Hist. Zool., 24, n.º 26: 294

Localidade tipo: Rio Solimões, Brasil.

Distribuição: Médio Amazonas, Brasil.

Micrurus spixii martiusi Schmidt Pr. 5 fig. 2

1953 *Micrurus psixii martiusi* Shmidt, Fieldiana, Zool., *34;* n.º 14: 175; figs. 33 e 34b

Localidade tipo: Santarém, Pará, Brasil.

Distribuição: Baixo Amazonas até o Mato Grosso, Brasil.

Micrurus spixii obscurus (Jan) Pr. 5 fig. 3

1872 *Elaps corallinus* var. *obscura* Jan, in Jan et Sordelli, Icon. Gén. Ophid., *3:* liv. 41 pr. 6, fig. 3

1881 *Elaps heterozonus* Peters, W., Sitzber. Ges. Naturf. Freunde Berlim, 1881 pr: 52

1896 *Elaps heterozonus;* Boulenger, Cat. Sn. Brit. Mus., *3:* 417

1943 *Micrurus spixii obscura;* Schmidt et Walker, Zool. Ser. Field Mus. Nat. Hist., *24:* 294

1953 *Micrurus spixii obscurus:* Schmidt, Fieldiana: 175

Localidade tipo: Lima (in error) — restrita a Peru Oriental (Schmidt et Walker, 1. c.: 294) re-restrita a: Iquitos, Peru (Schmidt 1. c.: 175)

Distribuição: Sul da Venezuela e Sul da Colômbia até o Sul do Peru; Brasil, (Conhecido por um exemplar procedente de Dom Bosco, Iauareté, Mun. Uaupés, Estado de Amazonas).

Micrurus surinamensis (Cuvier)

1817 *Elaps surinamensis* Cuvier, Le Règne Animal, Paris, 2:84

1919 *Micrurus surinamensis;* Beebe, Zoologica 2: 216

* Extraterritorial.

Localidade tipo: Surinam.

Distribuição: Sudeste da Venezuela, Guianas, regiões Amazônicas da Colômbia, Equador, Peru, Brasil e Bolívia.

CHAVE PARA AS SUBSPÉCIES

A — Placas cefálicas, todas distintamente orladas de preto; ventrais 162-174 nos machos e 173-187 nas fêmeas .... *surinamensis*

B — Placas cefálicas com orlas pretas incompletas; ventrais 180-193 nos machos e 197-206 nas fêmeas .... *nattereri*

Micrurus surinamensis surinamensis (Cuvier) Pr. 5 fig. 4

1817 *Elaps surinamensis* Cuvier, Règne Anim. 1.ª, ed.,

1896 *Elaps surinamensis;* Boulenger, Cat. Sn. Brit. Mus., 3: 414

1919 *Micrurus surinamensis;* Beebe, Zoologica, 2: 216

1952 *Micrurus surinamensis surinamensis;* Schmidt, Fieldiana, Zool., *34*, (4):29; fig. 4 (Apud Jan. Icon. Gén.).

Localidade tipo: Surinam

Distribuição: Guianas; Brasil, Ter. Fed. Amapá, Est. Pará, Est. Amazonas e regiões Amazônicas da Colômbia, Equador, Peru e Bolívia.

Micrurus surinamensis nattereri Schmidt Pr. 5 fig. 5

1952 *Micrurus surinamensis nattereri* Schmidt, Fieldiana, Zool., *34*, (4): 27

Localidade tipo: Entre Guaramoca e San Fernando; corrigida (Hoge e Lancini 1962) para "Entre Guaramaco e San Fernando de Atabapo, Venezuela".

Distribuição: Conhecida da localidade tipo, sudeste da Venezuela e nordeste do Estado de Amazonas, Brasil.

VIPERIDAE

CROTALINAE

CHAVE PARA OS *CROTALINAE* DAS AMÉRICAS

I — Chocalho presente (Pr. 8 fig. 6) .... *Crotalus*

A — Escudos simétricos na cabeça .... [*Sistrurus*] (subg)

B — Sem escudos simétricos na cabeça .... [*Crotalus*] (subg)

II — Chocalho ausente

A — Escudos simétricos na cabeça .... *Agkistrodon*

B — Sem escudos simétricos na cabeça

a) Última placas subcaudais substituídas por quatro séries de escamas eriçadas (pr. 8 fig. 5) .... *Lachesis*

b) Últimas placas subcaudais normais (pr. 8 ig. 4) .... *Bothrops*

CHAVE PARA OS *BOTHROPS*

I — Focinho levantado (Pr. 9 fig. 1) .... *hyoprora*

II — Focinho não levantado; cauda preênsil

A — Cor geral verde; 55-71 subcaudais, todas ou quase todas divididas .... *bilineatus*

B — Cor geral cinzenta; 71-83 subcaudais na sua maioria inteiras .... *castelnaudi*

III — Focinho não levantado; cauda não preênsil

A — Bordo anterior da fosseta loreal separado da 2.ª supralabial; carena longa e baixa

1 — Ventre preto; marcas na cabeça em forma de Λ (Pr. 9 fig. 3 e 5)

1a — Marca na cabeça sem barra transversal (Pr. 9 fig. 5); faixa postocular reta (Pr. 9 fig. 6) .... *cotiara*

1b — Marca na cabeça com barra transversal (Pr. 9 fig. 3); faixa postocular em forma de gancho (Pr. 9 fig. 4) .... *fonsecai*

2 — Ventre e marcas na cabeça não como em 1

2a — Manchas do dorso em forma de meia lua, fundidas ou não com as manchas paraventrais, com o centro claro em forma de cruz; (Pr. 10 e 11 fig. 3) cabeça negra com linhas brancas (Pr. 9 fig. 7 e Pr. 11 fig. 2); dorsais 25-37; ventrais 155-190; subcaudais 30-48 .. *alternatus*

2b — Manchas do dorso e cabeça não como em 2a; dorsais 21-27, ventrais 166-185

2b' — 3.ª e 4.ª supralabiais mais longas; subocular separada das supralabiais por 2-3 séries de escamas; colorido do dorso variável com manchas escuras orladas de claro, em forma de triângulos ou trapézios; uma série de manchas paraventrais nos flancos (Pr. 35 e 36) *neuwiedi*

2b" — 4.ª supralabial mais longa; subocular separada das supralabiais por uma série de escamas; colorido do dorso pardo com manchas escuras formando faixas transversais largas; uma mancha clara na cabeça (Pr. 25 fig. 1-3). .... *iglesiasi*

2c — Manchas do dorso e cabeça não como em 2.ª; dorsais 19-21; ventrais 144-155

2c' — Dorsais em 25-27 séries .... *itapetiningae*

2c" — Dorsais em 19-21 séries .... *erythromelas*

B — Bordo anterior da fosseta loreal não separado da 2.ª supralabial. (Pr. 8 fig. 3)

I — Ventre xadrezado (Pr. 13 fig. 3); supralabiais geralmente 7; focinho pontudo projetado para frente (Pr. 13 fig. 1)

1 — Marcas dorsais indistintas com tendência a formar faixas transversais; (Pr. 12 e 13 fig. 3); manchas dorsais suplementares ausentes ou pouco aparentes; carena alta e curta; supralabiais escuras .... *atrox*

2 — Marcas dorsais distintas sem tendência a formar faixas transversais.

2a — Supralabiais escuras, região mentual escura, manchas suplementares distintas, faixa postocular nítida (Pr. 44 e 45) .... *pradoi*

2b — Supralabiais claras não marginadas de preto, região mentual clara; desenho como em Pr. 32 ... *leucurus*

2c — Supralabiais claras; manchas dorsais suplementares indistintas; manchas dorsais com os bordos quase paralelos; ventre xadrezado de amarelo e preto *marajoensis*

II — Ventre claro ou salpicado de escuro, nunca xadrezado; marcas dorsais distintas.

1 — Cantais aumentadas; supralabiais 8 a 9

1a — Faixa postocular ausente ou indistinta; ventrais 159-176; subcaudais 48-64 .... *brazili*

1b — Faixa postocular presente; ventrais 155-164; subcaudais 43-53; marcas no corpo como Pr. 43 ...... *pirajai*

1c — Faixa postocular presente; ventrais 170-186; subcaudais 60-66; marcas do corpo e cabeça como na Pr. 30 .... *jararacussu*

2 — Cantais não aumentadas

2a — Supralabiais geralmente 7; duas estrias claras na nuca; marcas na cabeça ausentes ou indistintas; aspecto geral aveludado (Pr. 33 e Pr. 34) .... *moojeni*

2b' — Supralabiais geralmente 8 a 9; marcas na cabeça e no corpo como na Pr. 28 e 29; cor geral marrom esverdeado .... *jararaca*

2e — Supralabiais geralmente 8-9; marcas indistintas na cabeça e colorido geral amarelado (Pr. 26) .. *insularis*

Bothrops Wagler

1824 *Bothrops* Wagler, in Spix, sp. nov. Serp. Bras.

Espécie tipo: *Bothrops megaera* Wagler = *Bothrops leucurus* Wagler.

Bothrops alternatus Duméril, Bibron et Duméril Pr. 10 e 11

1854 *Bothrops alternatus* Duméril, Bibron et Duméril Erp. Gén; 7 n.º 2. Atlas pr. 82, bis, fig. 1a.

1896 *Lachesis alternatus;* Boulenger, Cat. Sn. Brit. Mus., 3: 543.

1925 *Lachesis inaequalis* Magalhães, Mem. Inst. Oswaldo Cruz, *18* n.º (1): 153. pr. 7-12.

Localidade tipo: América do Sul, Argentina e Paraguai.

Distribuição: Argentina (norte); Uruguai; Paraguai; Brasil, Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso e Rio de Janeiro. Mapa 1.

Bothrops atrox Linnaeus Pr. 12 e 13

1758 *Coluber atrox* Linnaeus, Syst. Nat., 10 ed., *1*: 222.

1824 *Bothrops furia* Wagler, in Spix, sp nov. Serp. Brasil.: 52.

1824 *Bothrops taeniatus* Wagler, in Spix, sp. nov. Serp. Brasil.: 55 pr. XXI.

1966 *Bothrops atrox:* Hoge, Mem. Inst. Butantan, *32;* pr. V, figs. 1, 1a e 1b.

Localidade tipo: restrita a "Surinam" (Hoge l.c.)

Distribuição: Florestas equatoriais da Colômbia. Venezuela, Guianas, Brasil, Peru, Equador e Bolívia.

Bothrops bilineatus bilineatus Hoge Pr. 15 fig. 2 e 3

1821 *Cophias bilineatus* Wied, Reise Brasil, *2*: 339.

1822 *Trigonocephalus bilineatus:* Schinz I, Cuv. Thier; *2*: 143.

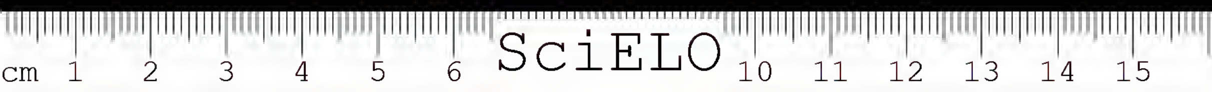
1824 *Cophias bilineatus:* Wied, Abbid. Naturg. Brasil, pr. 5 e 6.

1825 *Cophias bilineatus*: Wied, Beitr. Nat. Brasil, *1*: 483.

1830 *Bothrops*... spécies... *Cophias bilineatus* Neuw.; Wagler, Syst. Amph., 174.

1869 *Trigonocephalus* [*Bothrops*] *arboreus* Cope, Proc. Amer. Phil. Soc., 9: 157.

1966 *Bothrops bilineatus bilineatus;* Hoge, Mem. Inst. Butantan, 32:114; pr. 1, fig. 1.



Localidade tipo: "Villa Viçosa" (atualmente Marobá) no Rio Peruhybe, Estado da Bahia, Brasil.

Distribuição: Florestas equatoriais da Venezuela; Guianas e Brasil, Território Federal Amapá, Estado do Maranhão, e uma população isolada na vertente Atlântica do Rio de Janeiro e Bahia.

Bothrops bilineatus smaragadinus Hoge Pr. 15 fig. 2 e 3

1966 *Bothrops bilineatus smaragdinus* Hoge, Mem. Inst. Butantan, 32: 1955 114; pr. I, fig. 2a e 2b.

Localidade tipo: Alto Rio Purus, Estado do Amazonas, Brasil.

Distribuição: Florestas equatoriais do Equador, Peru, Colômbia, Brasil, médio Amazonas e Bolívia.

Bothrops brazili Hoge Pr. 16

1923 *Bothorps neglecta* Amaral [partim: paratipo *Bothorops neglecta*] Proc New Engl. Zool. Club, 8: 99.

1953 *Bothrops brazili;* Hoge, Mem. Inst. Butantan, 25: 15-21.

Localidade tipo: Tomé Assú no Rio Acará-Mirim, Estado do Pará, Brasil.

Distribuição: Florestas equatoriais da Venezuela; Guianas; Brasil, Território Federal Amapá, Estado do Pará, Amazonas e Norte do Estado de Mato Grosso; Bolívia; Peru e Colômbia. Mapa 2.

Bothrops castelnaudi Duméril, Bibron et Duméril Pr. 17 e 18

1853 *Bothrops Castelnaudii* Duméril, Mém. Acad. Sci., 23: 139.

1854 *Bothrops castelnaudi* Duméril, Bibron et Duméril, Erp. Gén., 7, (2): 1511.

1860 *Bothriechis castelnaui;* Cope (error, pro *castelnaudi*) Proc. Acad. Nat. Sc. Philadelphia: 345.

1861 *Bothriopsis quadriscutatus* Peters, Mber, Berlin Akad., 1861: 359.

1889 *Thanatophis montanus* Posada-Arango, Bull. Soc. Zool. France: 244

1896 *Lachesis castelnaudi;* Boulenger; Cat. Sn. Brit. Mus., 3: 544.

Localidade tipo: não indicada (Guichenot *in* Castelnau 1855 indica "Province du Goyaz").

Distribuição: Conhecida por alguns exemplares da Colômbia; Equador; Peru e Brasil (um exemplar é conhecido da fronteira Brasil — Venezuela).

Bothrops cotiara (Gomes) Pr. 19 e 9 fig. 5 e 6

1913 *Lachesis cotiara* Gomes, Ann. Paul. Med. Cirurg. São Paulo, *1*, n.° (3): 65.

1925 *Bothrops cotiara;* Amaral, Contr. Inst. Trop. Biol. Med., 2:53.

Localidade tipo: Núcleo Colonial Cruz Machado, Marechal Mallet, Estado do Paraná, Brasil.

Distribuição: Florestas de Araucaria na Argentina (Missiones) e Brasil (Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná e no Sudeste de São Paulo). Mapa 4

Bothrops erythromelas Amaral Pr. 20 e 21.

1923 *Bothrops erythromelas* Amaral, Proc. New Engl. Zool. Club., 8:96.

Localidade tipo: Perto de Joazeiro, Estado da Bahia, Brasil.

Distribuição: Regiões secas do Nordeste (conhecida do Estado do Ceará, Bahia, Minas Gerais e Paraiba). Mapa 4

Bothrops fonsecai Hoge et Belluomini Pr. 22 e 23

1959 *Bothrops fonsecai* Hoge et Belluomini, Mem. Inst. Butantan, 28: 195.

Localidade tipo: Santo Antonio do Capivari, Estado do Rio de Janeiro, Brasil.

Distribuição: Brasil, Nordeste de São Paulo, sul do Rio de Janeiro e extremo sul de Minas Gerais.

Bothrops hyoprorus Amaral Pr. 24 e 9 fig. 1

1935 *Bothrops hyoprora* Amaral, Mem. Inst. Butantan, 9: 222.

Localidade tipo: La Pedrera, Colômbia.

Distribuição: Florestas equatoriais da Colômbia; Equador; Peru e Brasil, Amazonas ocidental e Rondônia.

Botrops iglesiasi Amaral Pr. 25

1923 *Bothorps iglesiasi* Amaral, Proc. New Engl. Zool. Club. 8:97.

Localidade tipo: Perto da Fazenda Grande, margem direita do Rio Gurgueia, Estado do Piauí, Brasil.

Distribuição: Conhecido somente no norte do Piauí. Mapa 5

Bothrops insularis (Amaral) Pr. 26

1921 *Lachesis insularis* Amaral, Anex. Mem. Inst. Butantan, Sec. Ofiol., *1*, n.º (1):18.

1930 *Bothrops insularis;* Amaral, Mem. Inst. Butantan, 4:114.

Localidade tipo: Ilha da Queimada Grande, na Costa de São Paulo, Brasil.

Distribuição: Ilha da Queimada Grande

Bothrops itapetiningae (Boulenger) Pr. 27

1907 *Lachesis Itapetiningae* Boulenger, Ann. Mag. Nat. Hist., *20*, n.º (7): 338.

1910 *Lachesis neuwiedii itapetiningae;* Ihering [partim], Rev. Mus. Paul., *8*: 360.

1930 *Bothrops itapetiningae;* Amaral, Mem. Inst. Butantan, 1929 *4*: 235.

Localidade tipo: Itapetininga, Estado de São Paulo, Brasil.

Distribuição: Nos campos do Paraná, São Paulo, Mato Grosso, Minas Gerais até Distrito Federal (conhecido por um exemplar do Rio Grande do Sul cuja procedência tem que ser confirmada). Mapa 7

Bothrops jararaca (Wied) Pr. 28 e 29

1824 *Cophias jararaca* (no texto) *Cophias atrox* "pullus" (na prancha); Wied Abbild. Nat. Brasil, Lief, 8. non *Cophias jararaca* Merrem 1822 nom. nov. pro *coluber jauanus* Gmelin iconotypo em Seba I. pr. XIX, 12 localidade tipo: Java "in error" *Crotalus durissus* susp. (pos. *C.d. cascavella* Wagler 1824), Wied, Abbild. Nat. Brasil, Lief. 7.

1824 *Cophias atrox* ... *jararaca;* Wied 1824, In Isis v. Oken, *14*, (9): 987.

1824 *Cophias jajaraca;* (erro tipográfico pro *jararaca*) Wied In Isis v. Oken, *14* (10): 1103.

1825 *Cophias jararaca;* Wied Beitr. Nat. Brasil, *1*: 470.

1830 *Bothrops jararaca;* Wagler, Nat. Syst. Amph: 174.

1896 *Lachesis lanceolatus;* Boulenger [partim], Cat. Sn. Brit. Mus., 3: 535.

Localidade tipo: Espírito Santo, Brasil.

Distribuição: Argentina, Missiones; Paraguai; Brasil, Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Bahia (sul) e Minas Gerais. Mapa 6.

Bothrops jararacussu Lacerda Pr. 30 e 31

1884 *Bothrops jararacussu* Lacerda, Lec. Ven. Serp. Brézil, n.º 8

1896 *Lachesis lanceolatus;* Boulenger [partim], Cat. Sn. Brit. Mus., 3:535.

Localidade tipo: Província do Rio de Janeiro, Brasil.

Distribuição: Argentina (nordeste); Brasli, Estados de Santa Catarina, Paraná, Mato Grosso, São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Sul da Bahia; Paraguai e Bolívia.

Bothrops leucurus Wagler Pr. 32

1824 *Bothrops megaera* Wagler (homônimo de *Megaera Shaw* = *Bothrops lanceolatus* (Lacépède), In Spix Serp. Bras; Sp. Nov, p. 50; pr. XIX. — localidade tipo: Bahia (Salvador) Brasil.

1824 *Bothrops leucurus* Wagler, In Spix, Serp Brasil; Sp. Nov. p. 57; pr. XXII, fig. 2

1966 *Bothrops megaera;* Hoge, Mem. Inst. Butantan, 32:110.

Localidade tipo: Província da Bahia, Brasil.

Distribuição: Conhecido por alguns exemplares da Bahia.

Bothrops marajoensis Hoge

1966 *Bothrops marajoensis* Hoge, Mem. Inst. Butantan, 32: 123.

Localidade tipo: Severino, Ilha Marajó, Estado do Pará, Brasil.

Distribuição: Ilha Marajó e ao longo da costa até regiões equatoriais do Maranhão, Brasil.

Bothrops moojeni Hoge Pr. 33 e 34

1966 *Bothrops moojeni* Hoge, Mem. Inst. Butantan, 32: 126; pr. IV.

Localidade tipo: Brasília, Distrito Federal, Brasil.

Distribuição: Brasil, Estado do Paraná, São Paulo, Mato Grosso, Minas Gerais, Goiás e Maranhão.

Bothrops neuwiedi neuwiedi Wagler

1824 *Bothrops neuwiedi* Wagler, in Spix, Serp. Brasil, Sp. Nov. n.º 56.

1896 *Lachesis neuwiedi;* Boulenger [partim], Cat. Sn. Brit. Mus., 3:542.

1925 *Bothrops neuwiedi neuwiedi;* Amaral, Contr. Harv. Inst. Trop. Biol. Med., *2*: 57.

Localidade tipo: Província da Bahia, Brasil.

Distribuição: Brasil, Estado da Bahia.

Bothrops neuwiedi bolivianus Amaral

1927 *Bothrops neuwiedii bolivianus* Amaral, Bull. Antivenun, Inst. Amer., *1*: 6.

Localidade tipo: Buenavista, Prov. Sara, Departamento de Santa Cruz de La Sierra, Bolívia.

Distribuição: Bolívia; Brasil, extremo oeste do Estado de Mato Grosso.

Bothrops neuwiedi diporus Cope Pr. 36 e 37

1862 *Bothrops diporus* Cope, Proc. Ac. Nat. Sc. Philadelphia, *14*: 347.

1896 *Lachesis neuwiedii;* Boulenger, Cat. Sn. Brit. Mus. 3:542..

1930 *Bothrops neuwiedii meridionalis* Amaral, Bull. Antiv. Inst. Amer. *4* 38:66 fig. 1.

Localidade tipo: Rio Vermejo, fronteira Argentina-Paraguai.

Distribuição: Argentina; Paraguai; Brasil, regiões limítrofes com Paraguai.

Bothrops neuwiedi goyazensis Amaral

1925 *Bothrops neuwiedi goyazensis* Amaral, Contr. Harv. Inst. Trop. Biol. Med., *2*: 58; XIV:3; XV:3

Localidade tipo: Ypameri, Goiás, Brasil.

Distribuição: Brasil, Estado de Goiás.

Bothrops neuwiedi lutzi (Miranda — Ribeiro)

1915 *Lachesis lutzi* Miranda-Ribeiro, Arch. Mus. Nac. Rio de Janeiro, *17*:4

1925 *Bothrops neuwiedi bahiensis* Amaral, Contr. Harv. Inst. Trop. Biol. Med., *2*: 57.

1930 *Bothrops neuwiedii lutzi;* Amaral, Mem. Inst. Butantan; *4*: (1929) 238.

Localidade tipo: Rio São Francisco, Estado da Bahia, Brasil.

Distribuição: Brasil, interior do Estado da Bahia.

Bothrops neuwiedi mattogrossensis Amaral Pr. 38

1925 *Bothrops neuwiedi mattogrossensis* Amaral, Contr. Harv. Inst. Trop. Biol. Med., *2*: 60; pr, 14:6; pr. 16:6.

Localidade tipo: Miranda, Estado de Mato Grosso, Brasil.

Distribuição: Brasil, Sul de Mato Grosso.

Bothrops neuwiedi meridionalis Müller

1885 *Bothrops atrox meridionalis* Müller, Verh. Nat. Ges. Basel, *7*:699.

1896 *Lachesis neuwiedii;* Boulenger [partim], Cat. Sn. Brit. Mus., *3*:542.

1932 *Bothrops neuwiedi fluminensis* Amaral, Mem. Inst. Butantan, *7*: 97.

1966 *Bothrops neuwiedi meridionalis;* Hoge, Mem. Inst. Butantan, *32*: 128 (1965).

Localidade tipo: Andarai, Estado do Rio de Janeiro.

Distribuição: Brasil, Estados de Guanabara, Rio de Janeiro e Espírito Santo.

Bothrops neuwiedi paranaensis Amaral

1925 *Bothrops neuwiedi paranaensis* Amaral, Contr. Harv. Inst. Trop. Biol. Med., *2*: 61; pr. 14:7; pr. 16: 7.

Localidade tipo: Castro, Estado do Paraná, Brasil.

Distribuição: Estado do Paraná.

Bothrops neuwiedi pauloensis Amaral Pr. 39 e 40

1925 *Bothrops neuwiedi pauloensis* Amaral, Contr. Harv. Inst. Trop. Biol. Med., *2*: 59.

Localidade tipo: Leme, Estado de São Paulo, Brasil.

Distribuição: Estado São Paulo.

Bothrops neuwiedi piauhyensis Amaral

1916 *Bothrops neuwiedii piauhiense;* Gomes, In Neiva et Penna... (n. nud.), Mem. Inst. Oswaldo Cruz *8:* (3): 101.

1925 *Bothrops neuwiedii piauhyensis;* Amaral, Contr. Harv. Inst. Trop. Biol. Med., *2:* 58.

Localidade tipo: Regeneração, Estado do Piauí, Brasil.

Distribuição: Brasil, Estados do Piauí, Pernambuco, Ceará, Sul do Maranhão.

Bothrops neuwiedi pubescens (Cope) Pr. 11

1870 *Trigonocephalus [Bothrops] pubescens* Cope, Amer. Phil. Soc. Phil, *11* (1869): 57

1896 *Lachesis neuwiedii;* Boulenger, Cat. Sn. Brit. Mus., *3:* 542.

1925 *Bothrops neuwiedii riograndensis* Amaral, Contr. Harv. Inst. Trop. Biol. Med., *2:* 61.

1959 *Bothrops neuwiedi pubescens;* Hoge, Mem. Inst. Butantan, *28:* 84.

Localidade tipo: Rio Grande do Sul, Brasil.

Distribuição: Estado do Rio Grande do Sul.

Bothrops neuwiedi urutu Lacerda Pr. 42

1884 *Bothrops urutu* Lacerda, Leç. Ven. Serp. Brézil, :11

1896 *Lachesis neuwiedii;* Boulenger, [partim], Cat. Sn. Brit. Mus., *3:* 542

1937 *Bothrops neuwiedi urutu;* Amaral, Mem. Inst. Butantan, *10:* (1936): 160.

Localidade tipo: Província de Minas Gerais, Brasil.

Distribuição: Brasil, Norte do Estado de São Paulo e Sudeste de Minas Gerais.

Bothrops pirajai Amaral Pr. 43

1923 *Bothrops pirajai* Amaral, Proc. New Engl. Zool. Club, *8:* 99.

1923 *Botrops neglecta Amaral,* Proc. New Engl. Zool. Club, 8: 100.

1966 *Bothrops pirajai;* Hoge, Mem. Inst. Butantan, *34:* 132 (1965)

Localidade tipo: Ilhéus, Estados da Bahia, Brasil.

Distribuição: Sul do Estado da Bahia e Nordeste de Minas Gerais.

Bothrops pradoi (Hoge) Pr. 44 e 45

1948 *Trimeresurus pradoi* Hoge, Mem. Inst. Butantan, *20:* 1947. 193-202.

1955 *Bothrops atrox;* Amaral, Mem. Inst. Butantan, *26:* 215-220.

1966 *Bothrops pradoi;* Hoge, Mem. Inst. Butantan, *32:* 132 (1965)

Localidade tipo: Pau Gigante, Estado de Espírito Santo, Brasil.

Distribuição: Espírito Santo e Sul da Bahia.

CHAVE ARTIFICIAL PARA AS ESPÉCIES DE *CROTALUS DA AMÉRICA DO SUL*

I — Desenho do dorso com manchas romboidais nitidamente delineadas sobre a cor de fundo; estrias nucais distintas .... *durissus*

II — Desenho do dorso e estrias nucais indistintas, obliteradas por escamas de ponta branca, distribuidas irregularmente no corpo ...... *vegrandis* *

CHAVE ARTIFICIAL PARA AS SUBESPÉCIES DE *durissus*

I — Parte interna das manchas dorsais apenas mais claras do que os bordos Pr. 52 .... *terrificus*

II — Parte interna das manchas dorsais distintamente mais claras do que os bordos

A — Estrias paravertebrais largas com o centro mais claro do que os bordos e marginadas por uma série de escamas brancas (Pr. 50-51) *ruruima*

B — Estrias paravertebrais não como em A

a — Estrias paravertebrais curtas menores do que o comprimento da cabeça (Pr. 46 e 47) .... *cascavella*

b — Estrias paravertebrais longas, maiores do que o comprimento da cabeça

b^1 — Estrias paravertebrais sobre uma série de pintas escuras .. *marajoensis*

b_2 — Estrias paravertebrais sobre estrias contínuas (Pr. 48-49) *collilineatus*

Crotalus [Crotalus] durissus cascavella (Wagler, 1824) Pr. 46 e 47

1824 *Crotalus cascavella Wagler*, In Spix. Brasil, Sp. Nov.,: 60

1925 *Crotalus terrificus* var. *collirhombeatus* Amaral, Rev. Mus. Paul., *15:* 90.

1966 *Crotalus* [*Crotalus*] *durissus cascavella;* Hoge, Mem. Inst. Butantan, *32:* 139, pr. 12

Localidade tipo designada: Minas de Caraíba, Estado da Bahia, Brasil.

Distribuição: Regiões secas do Maranhão, Ceará, Piauí, Pernambuco, Alagoas, Rio Grande do Norte e extremo Nordeste de Minas Gerais.

* Extraterritorial.

Crotalus [Crotalus] durissus collilineatus Amaral Pr. 48 e 49

1926 *Crotalus terrificus collilineatus* Amaral 1926 [partim], Rev. Mus., Paulista *15:* 90.

1956 *Crotalus durissus terrificus;* Klauber [partim], Rattlesnakes *1:* 33.

1966 *Crotalus [Crotalus] durissus collilineatus;* Hoge, Mem. Inst. Butantan *32:* 139-142.

Localidade tipo: (Restrita, Hoge 1966) ao Estado de Mato Grosso, Brasil.

Distribuição: Mato Grosso, Goiás, Distrito Federal, Minas Gerais, São Paulo; no Sul, até a Argentina.

Crotalus [Crotalus] durissus marajoensis Hoge

1966 *Crotalus [Crotalus]* durissus marajoensis Hoge, Mem. Inst. Butantan, *32:* 143; pr. XV.

Localidade tipo: Tuynyu, Ilha Marajó, Estado do Pará, Brasil.

Distribuição: Campos da Ilha Marajó, Brasil.

Crotalus [Crotalus] durissus ruruima Hoge Pr. 50 e 51

1966 *Crotalus [Crotalus] durissus ruruima* Hoge, Mem. Inst. Butantan, *32:* 145; pr. XVI

Localidade tipo: Paulo Camp, Monte Roraima, Venezuela.

Distribuição: Conhecida das vertentes do Monte Roraima e Cariman-Paru na Venezuela. No Brasil um único exemplar do Território Federal de Roraima.

Crotalus [Crotalus] durissus terrificus (Laurenti) Pr. 52 e 53

1768 *Caudisona terrifica* Laurenti, Syn. Rept., 93.

1896 *Crotalus terrificus;* Boulenger [partim], Cat. Sn. Brit. Mus., *3:* 573.

1926 *Crotalus terrificus collilineatus* Amaral [partim], Rev. Mus. Paul., *15:* 90.

1936 *Crotalus durissus terrificus;* Klauber [partim], Rattlesnakes, *1:* 32.

1966 *Crotalus [Crotalus] durissus terrificus;* Hoge, Mem. Inst. Butantan. *32:* 147; pr. XVII.

Localidade tipo: Júlio de Castilho, Município de Taquari, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil (por designação Hoge 1966 l.c.).

Distribuição: Argentina; Uruguai; Paraguai; Bolívia; Sul do Brasil, Minas Gerais, São Paulo, Santa Catarina, Paraná, Rio Grande do Sul e Mato Grosso. Populações isoladas na Amazônia e Pará (Campos de Humaitá, Serra do Cachimbo e Santarém).

Lachesis muta muta (Linnaeus) Pr. 54 e 55

1766 *Crotalus mutus* Linnaeus, Syst. Nat. 12ª ed.,: 373.

1803 *Lachesis mutus;* Daudin, Hist. Nat. Rept., *5:* 351.



1896 *Lachesis muta;* Boulenger, Cat. Sn. Brit. Mus., *3:* 534.

1951 *Lachesis muta muta;* Taylor, Kansas Univ. Sci. Bull., *34*(1): 184.

1966 *Lachesis muta muta;* Hoge, Mem. Inst. Butantan, *32:* 161.

Localidade tipo: Surinam

Distribuição: Florestas equatorianas do Brasil; Guianas; Venezuela; Trinidad; Bolívia; Peru; Equador e Colômbia.

Lachesis muta noctivaga Hoge Pr. 56 e 57

1966 *Lachesis muta noctivaga* Hoge, Mem. Inst. Butantan, *32:* 162.

Localidade tipo: Vitória, Espírito Santo, Brasil.

Distribuição: Florestas da vertente Atlântica do Rio de Janeiro até Alagoas.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos as fotografias ao Senhor Antonio Seixas Neto e os desenhos de *Bothrops, Crotalus* e *Lachesis* a Ralph Grantsau; de *Micrurus,* mapas e desenhos esquemáticos a João Domingos Cavalheiro.

Recebido para publicação em 30/6/72
Aceito para publicação em setembro / 72

ÍNDICE DAS SERPENTES PEÇONHENTAS DO BRASIL

ELAPIDAE

ELAPINAE



VIPERIDAE

CROTALINAE





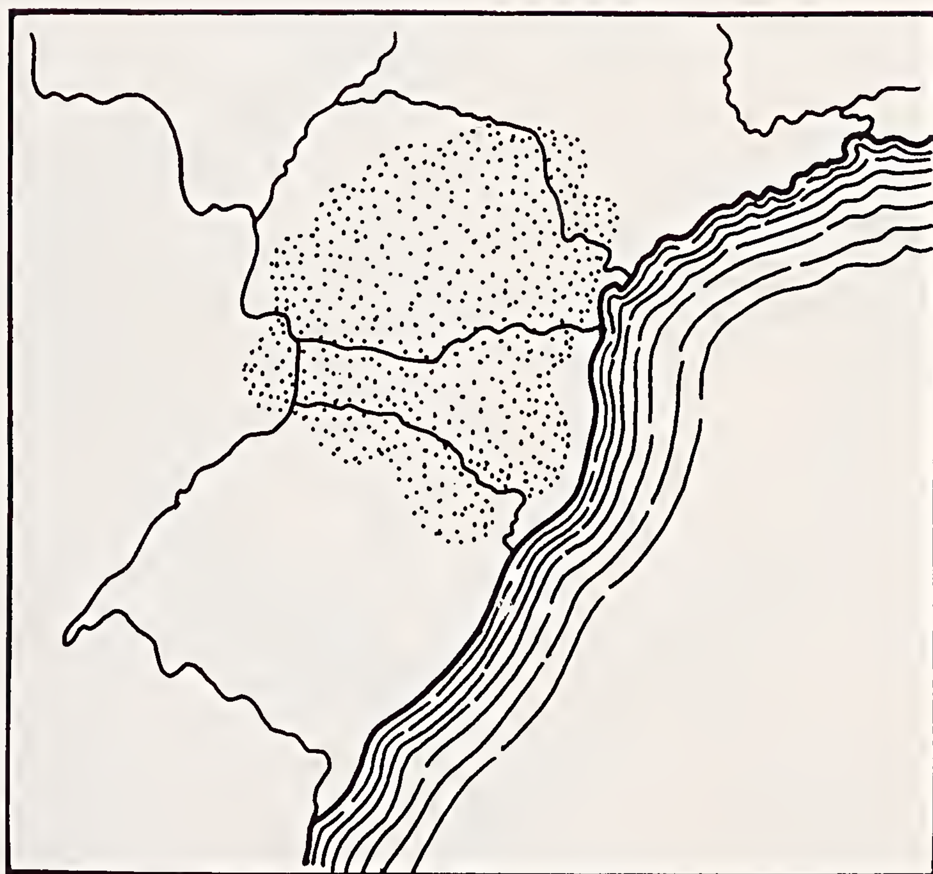
MAPA 1

Bothrops alternatus



MAPA 2

Bothrops brazili



MAPA 3

Bothrops cotiara



MAPA 4

Bothrops erythromelas

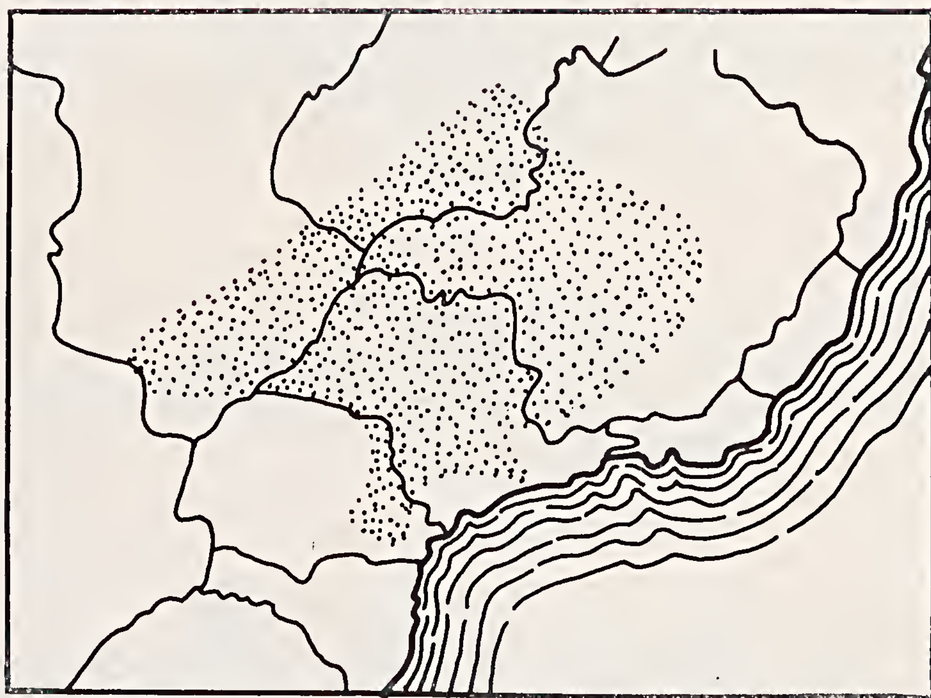


MAPA 5
Bothrops iglesiasi



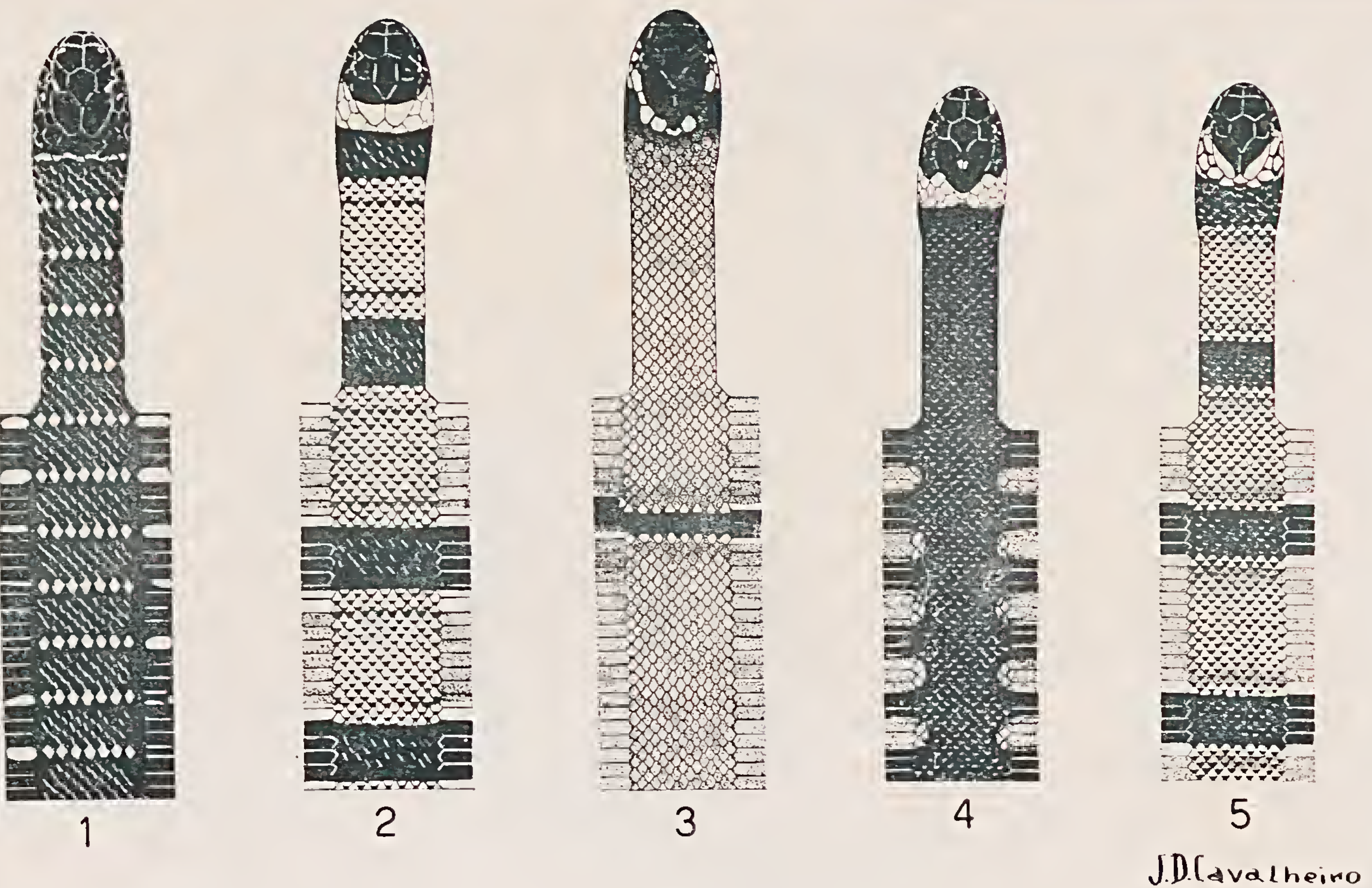
MAPA 6

Bothrops jararaca



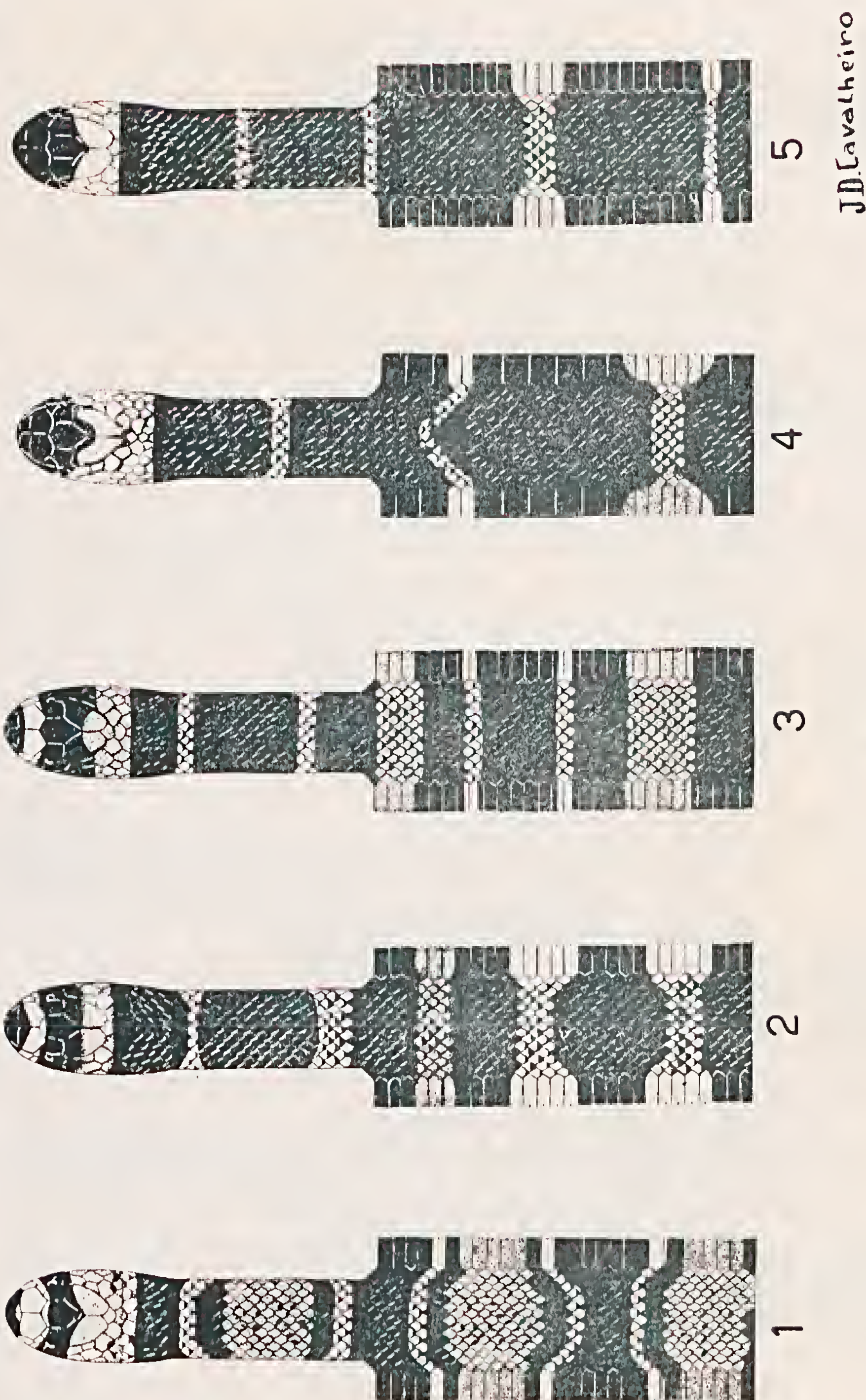
MAPA 7

Bothrops itapetiningae



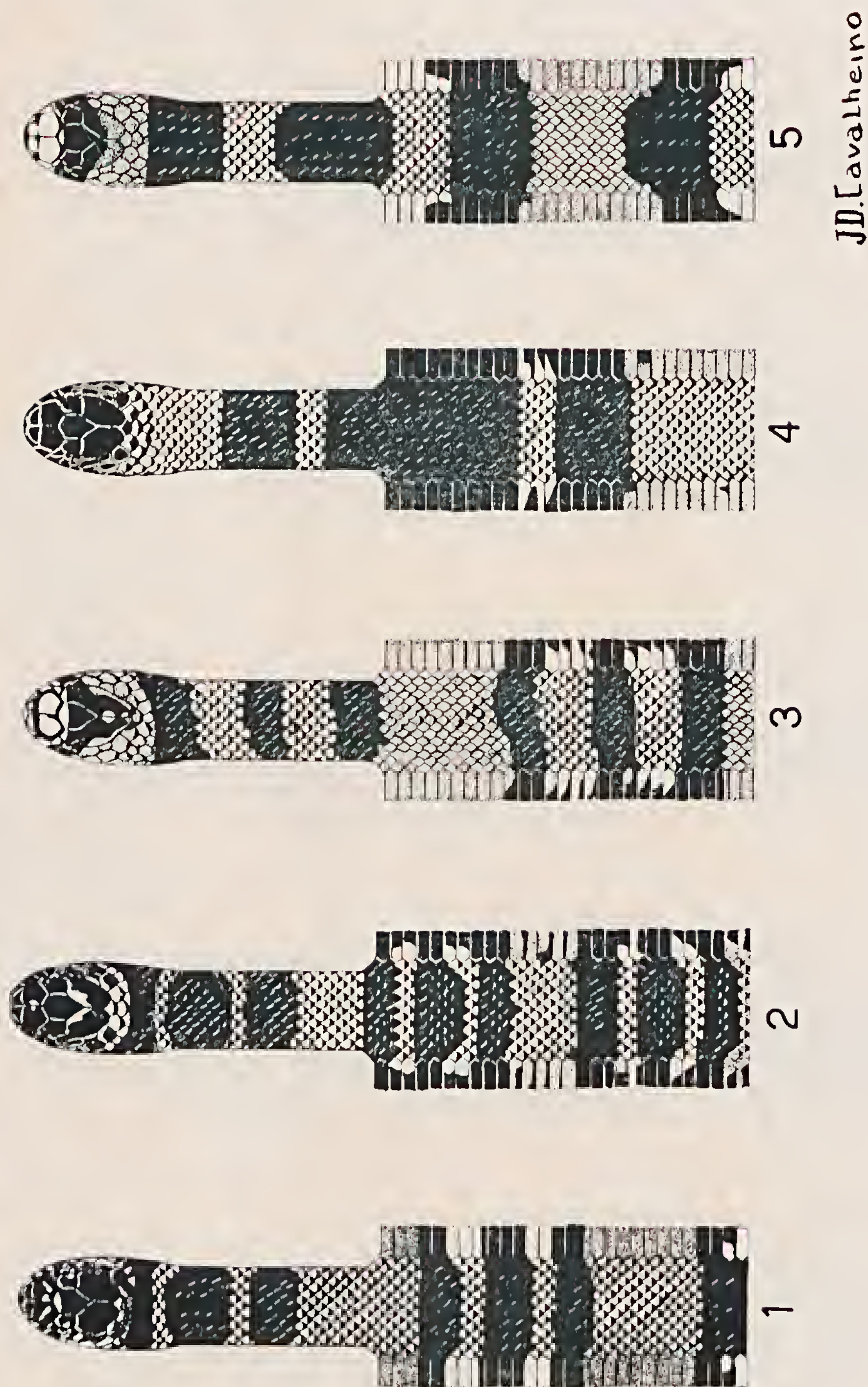
PR. 1

Fig. 1 — *Micrurus albicinctus*
Fig. 2 — *Micrurus annulatus bolivianus*
Fig. 3 — *Micrurus averyi*
Fig. 4 — *Micrurus collaris*
Fig. 5 — *Micrurus corallinus*



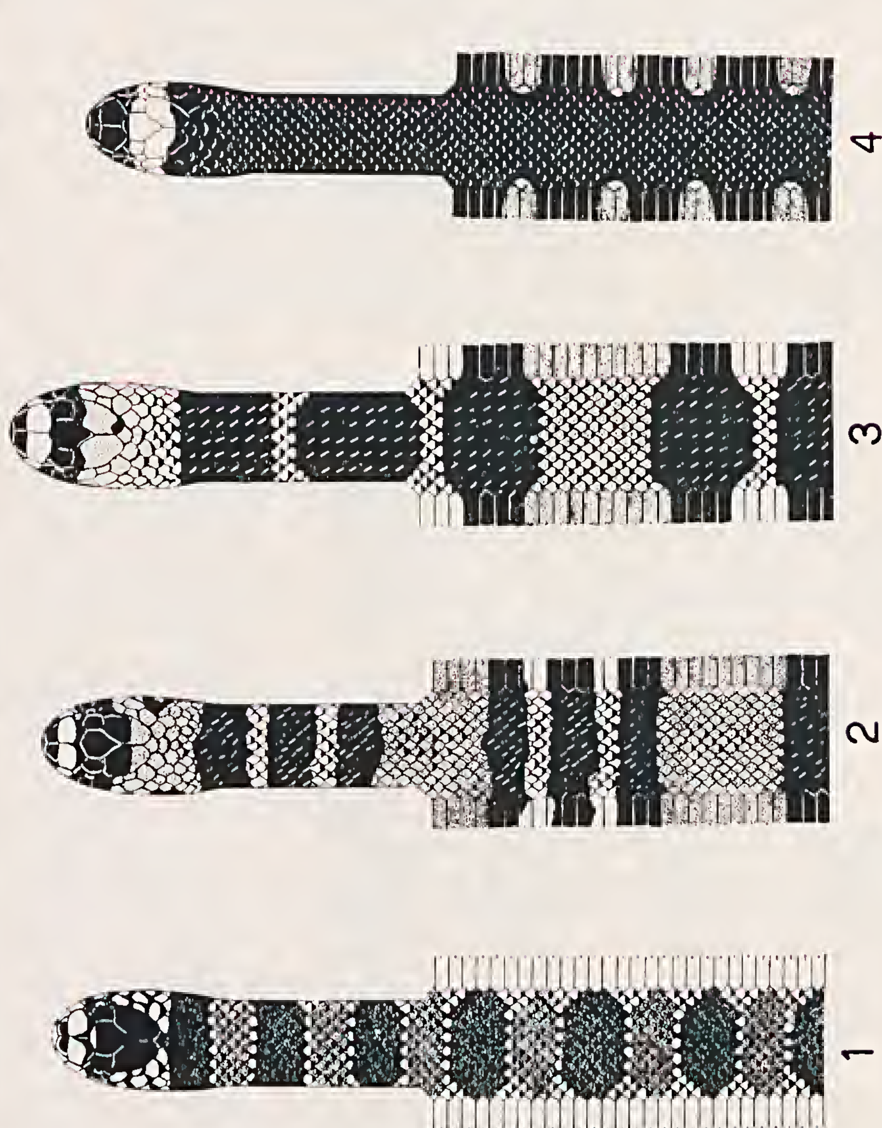
PR. 2

Fig. 1 — *Micrurus decoratus*
Fig. 2 — *Micrurus filiformis filiformis*
Fig. 3 — *Micrurus filiformis subtilis*
Fig. 4 — *Micrurus hemprichii hemprichii*
Fig. 5 — *Micrurus hemprichii ortoni*



PR. 3

Fig. 1 — *Micrurus frontalis frontalis*
Fig. 2 — *Micrurus frontalis altirostris*
Fig. 3 — *Micrurus frontalis brasiliensis*
Fig. 4 — *Micrurus frontalis pyrrhocryptus*
Fig. 5 — *Micrurus ibiboboca*

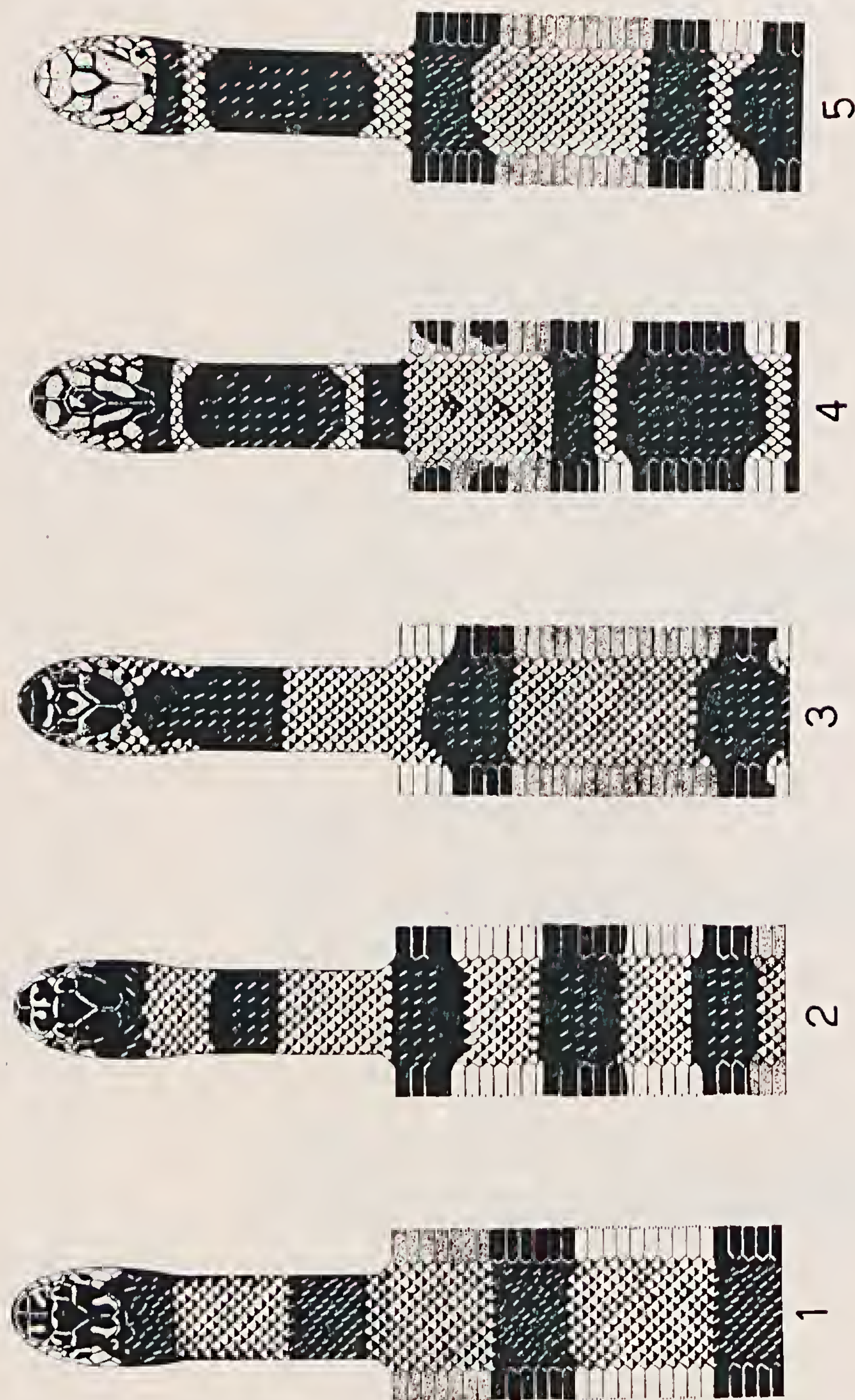


J.D.Cavalheiro

PR. 4

Fig. 1 — *Micrurus langsdorffi langsdorffi*
Fig. 2 — *Micrurus lemniscatus carvalhoi*
Fig. 3 — *Micrurus lemniscatus helleri*
Fig. 4 — *Micrurus narducci*

HOGE, A. R. e ROMANO, S. A. — Sinopse das serpentes peçonhentas do Brasil. *Mem. Inst. Butantan*, *36*: 109-208, 1972.

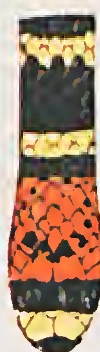


PR. 5

Fig. 1 — *Micrurus spixii spixii*
Fig. 2 — *Micrurus spixii martiusi*
Fig. 3 — *Micrurus spixii obscurus*
Fig. 4 — *Micrurus surinamensis surinamensis*
Fig. 5 — *Micrurus surinamensis nattereri*





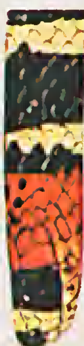








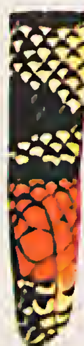
11



12



13



14

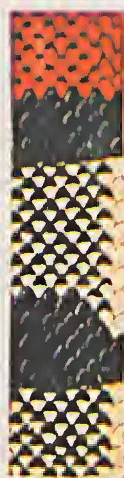
PR. 6

11 — *Micrurus corallinus*

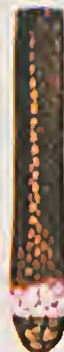
12 — *Micrurus decoratus*

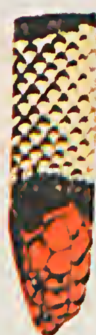
13 — *Micrurus lemniscatus helleri*

14 — *Micrurus frontalis*








15

16

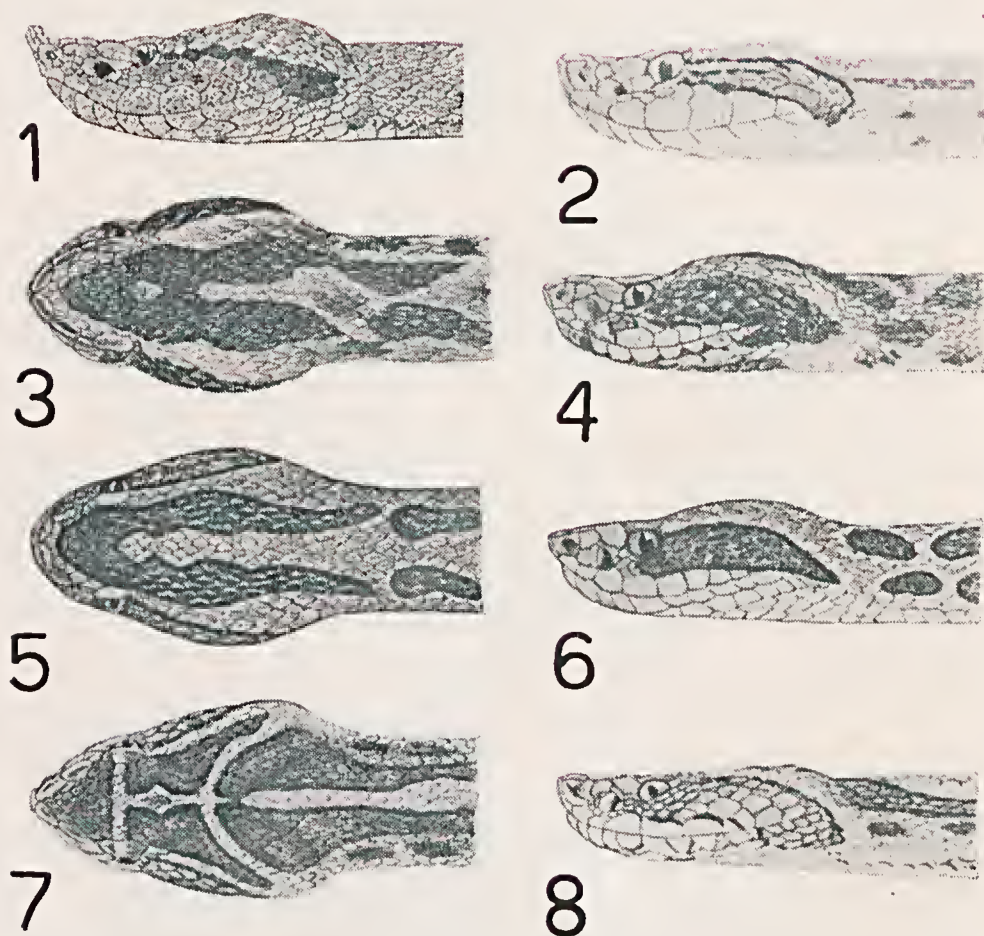
17

PR. 7

15 — *Micrurus surinamensis surinamensis*

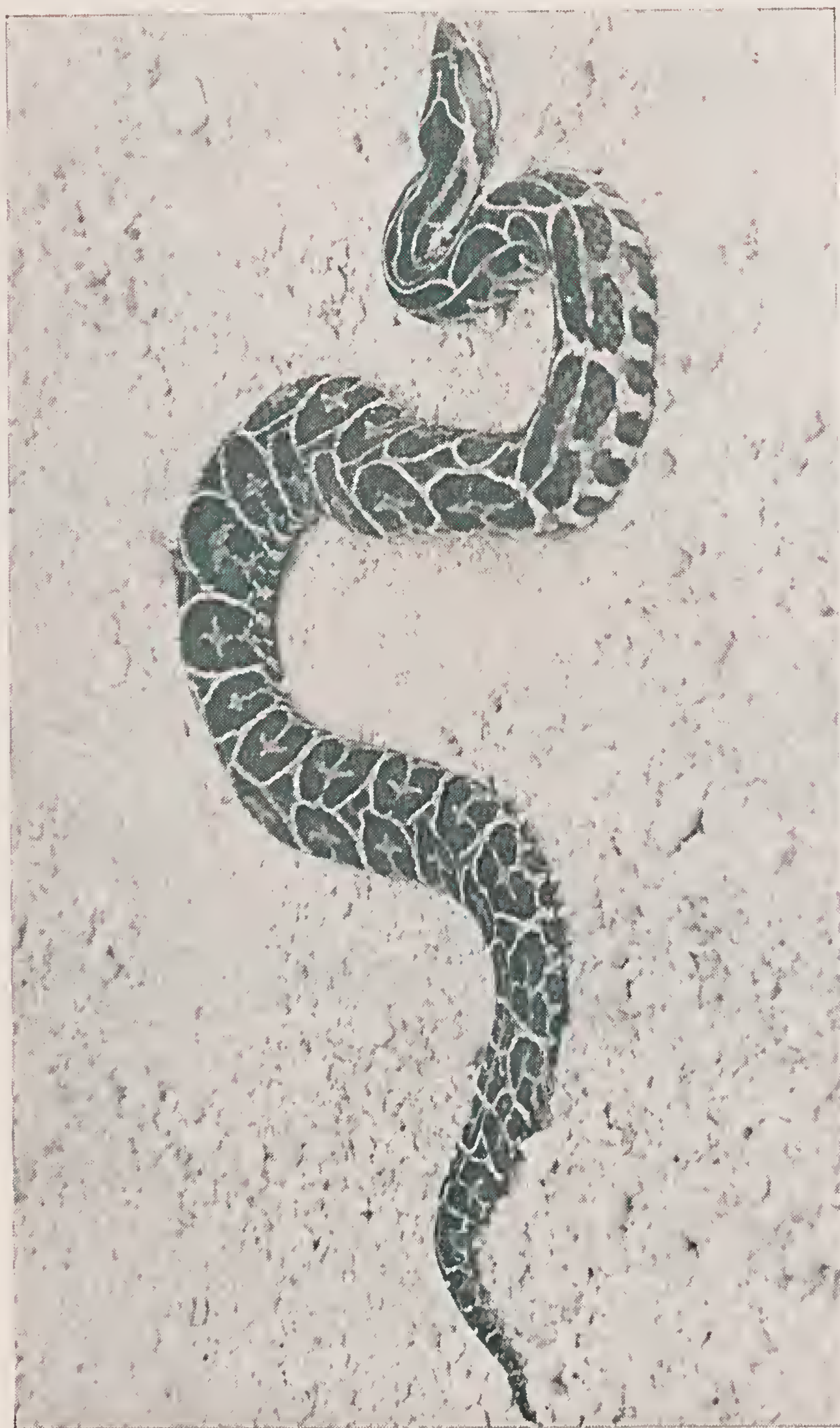
16 — *Micrurus spixii spixii*

17 — *Micrurus narducci*

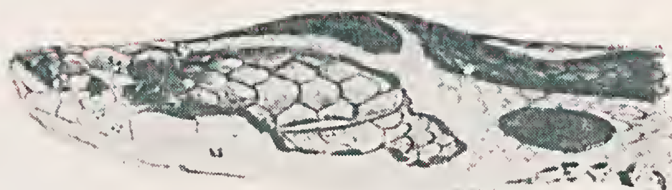


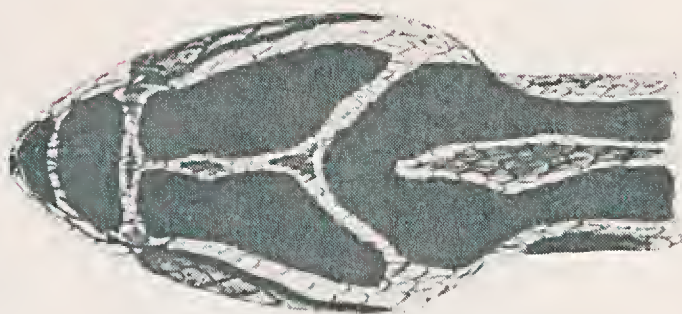
PR. 9

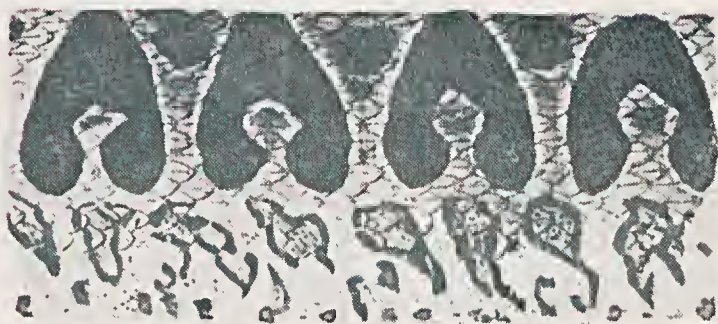
1 — *Bothrops* com focinho levantado
2 — *Bothrops* sem focinho levantado
3-4 — *Bothrops fonsecai*
5-6 — *Bothrops cotiara*
7-8 — *Bothrops alternatus*



PR. 10
Bothrops alternatus







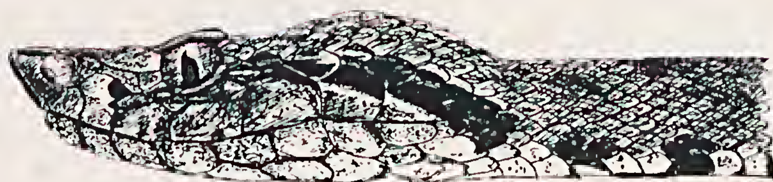
PR. 11

Fig. 1 a 3 — *Bothrops alternatus*



PR. 12

Bothrops atrox



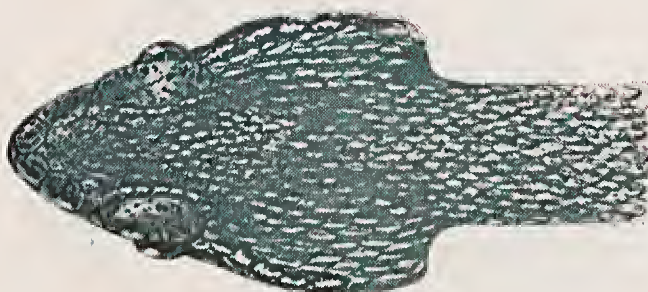


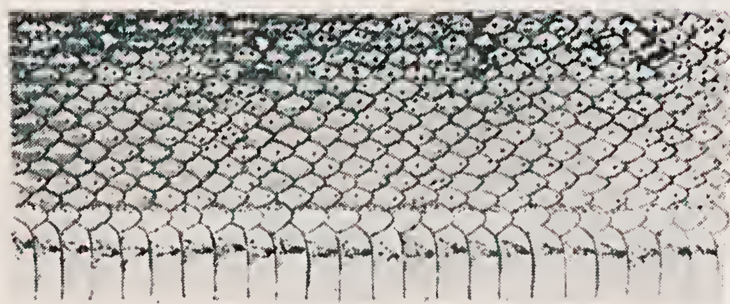


PR. 13

Fig. 1-3 — *Bothrops atrox*



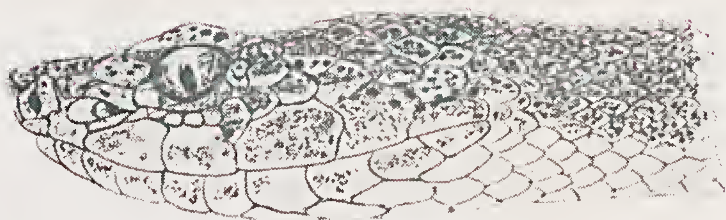




PR. 14

Fig. 1-3 — *Bothrops bilineatus bilineatus*





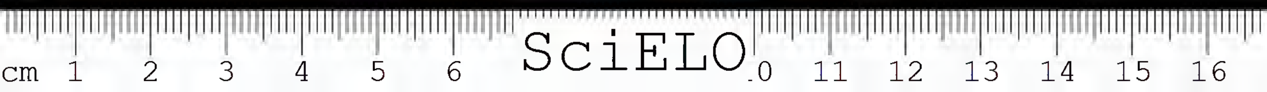


PR. 15

Fig. 1 — *Bothrops bilineatus bilineatus*
Fig. 2-3 — *Bothrops bilineatus smaragdinus*

PR. 16

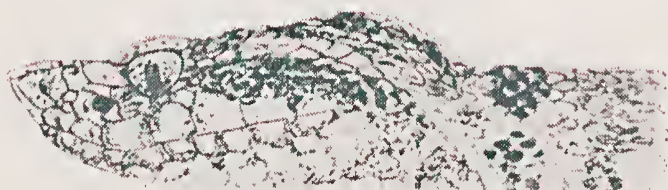
Bothrops brazili

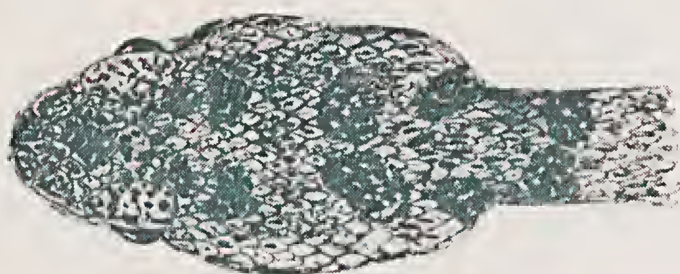


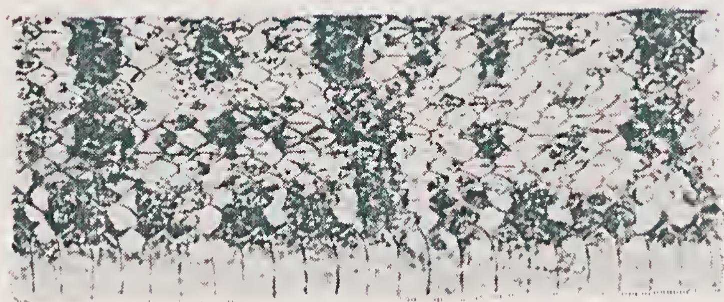


PR. 17

Bothrops castelnaudii

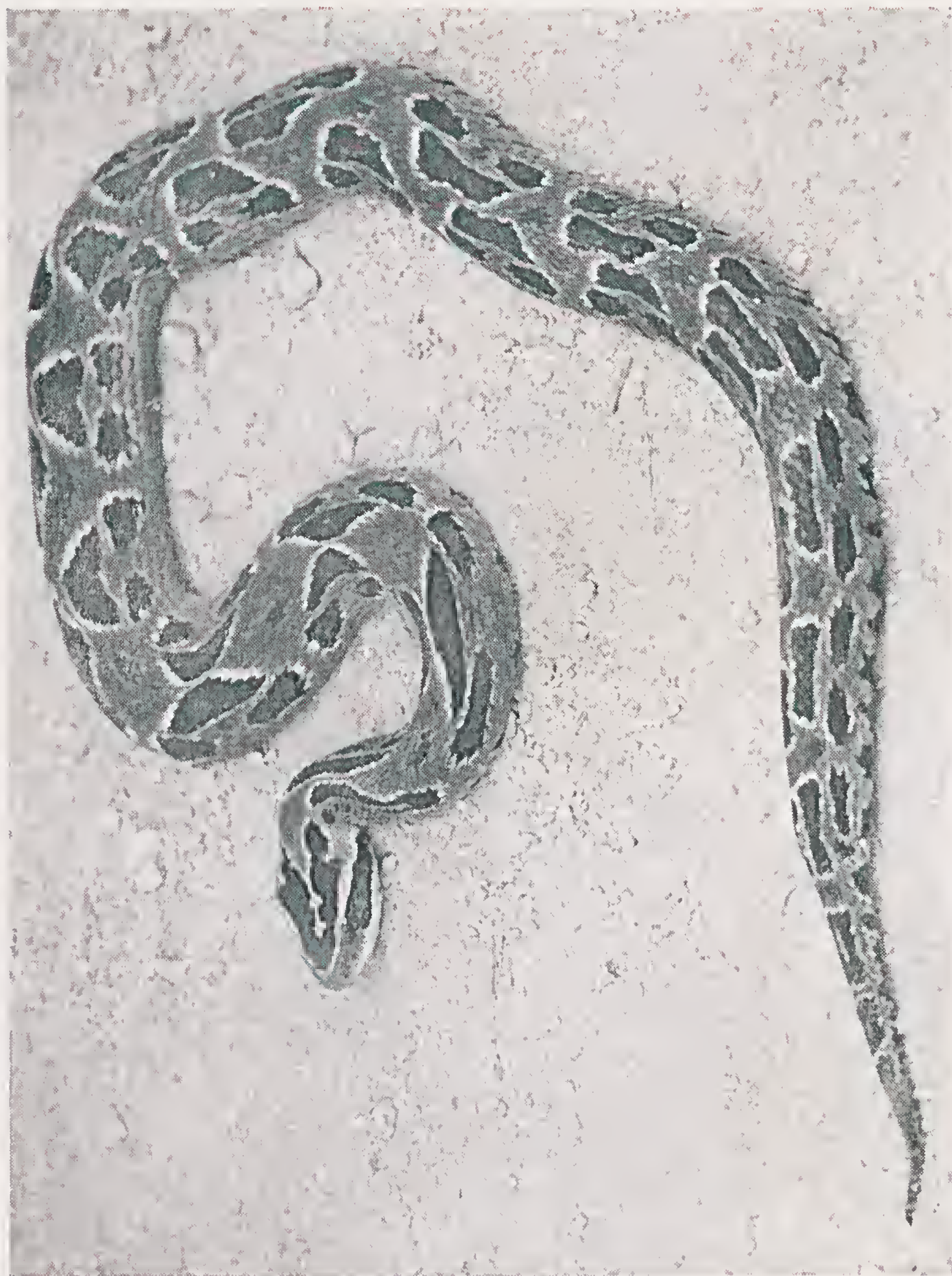






PR. 18

Fig. 1-3 — *Bothrops castelnaudii*

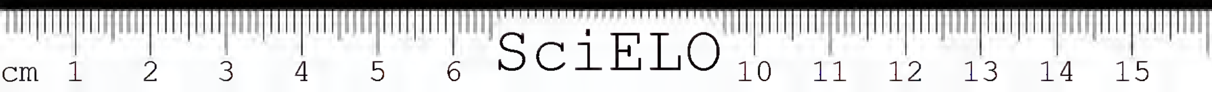


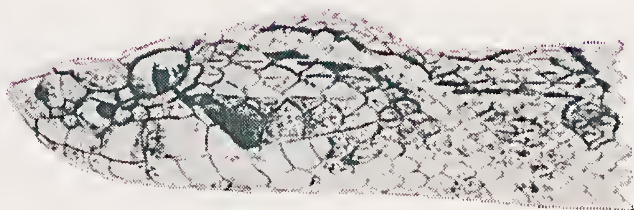
PR. 19

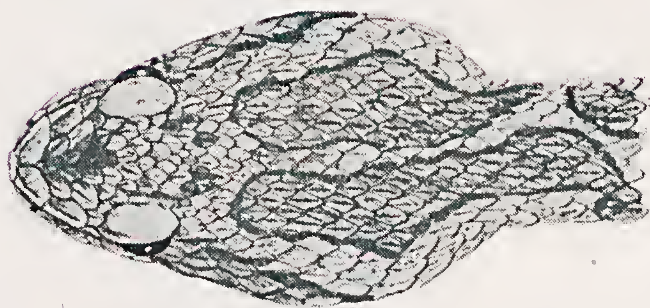
Bothrops cotiara

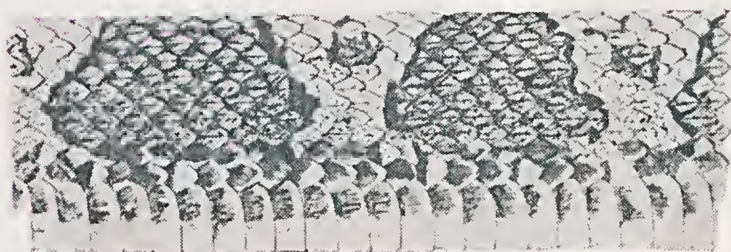
PR. 20

Bothrops erythromelas







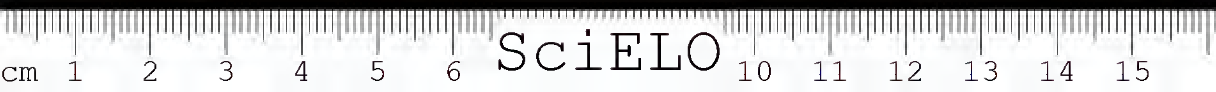


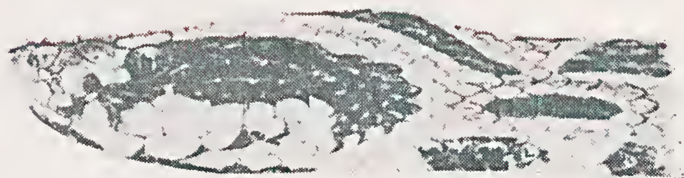
PR. 21

Bothrops erythromelas

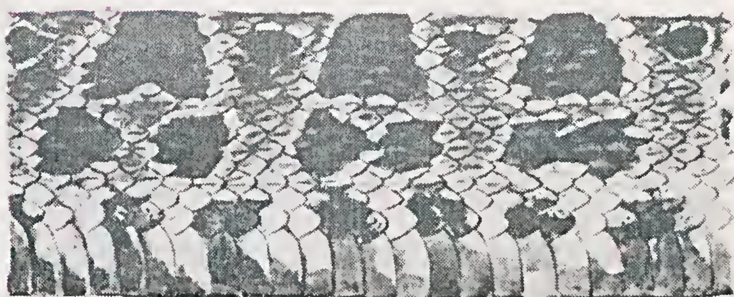
PR. 22

Bothrops fonsecai



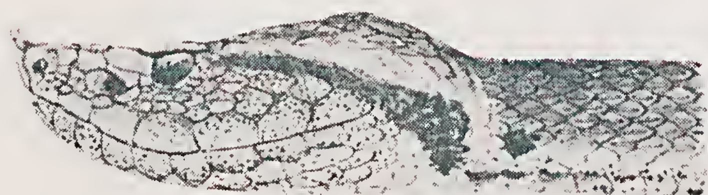


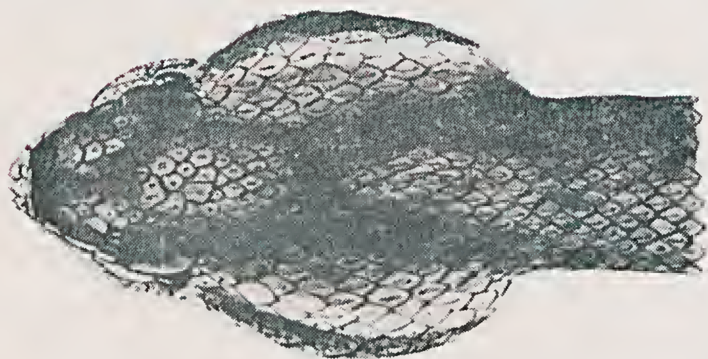




PR. 23

Fig. 1-3 — *Bothrops fonsecai*

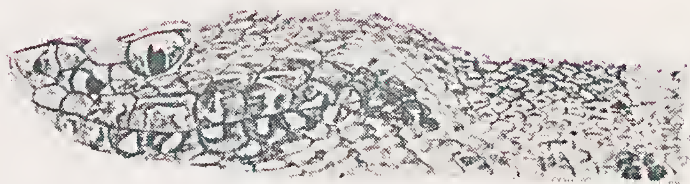


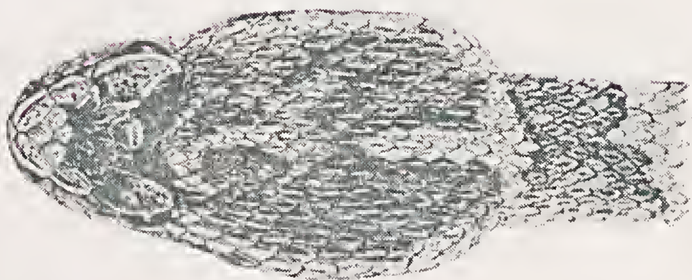


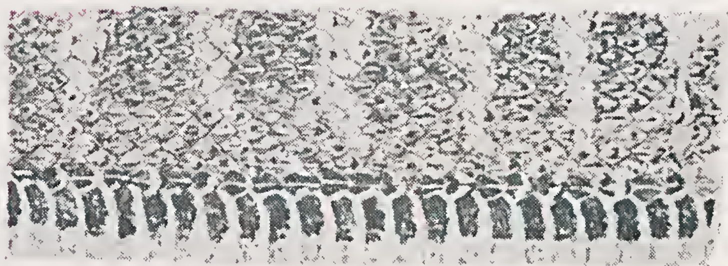


PR. 24

Fig. 1-3 — *Bothrops hyoprora*

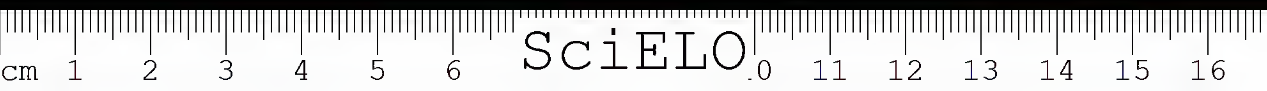


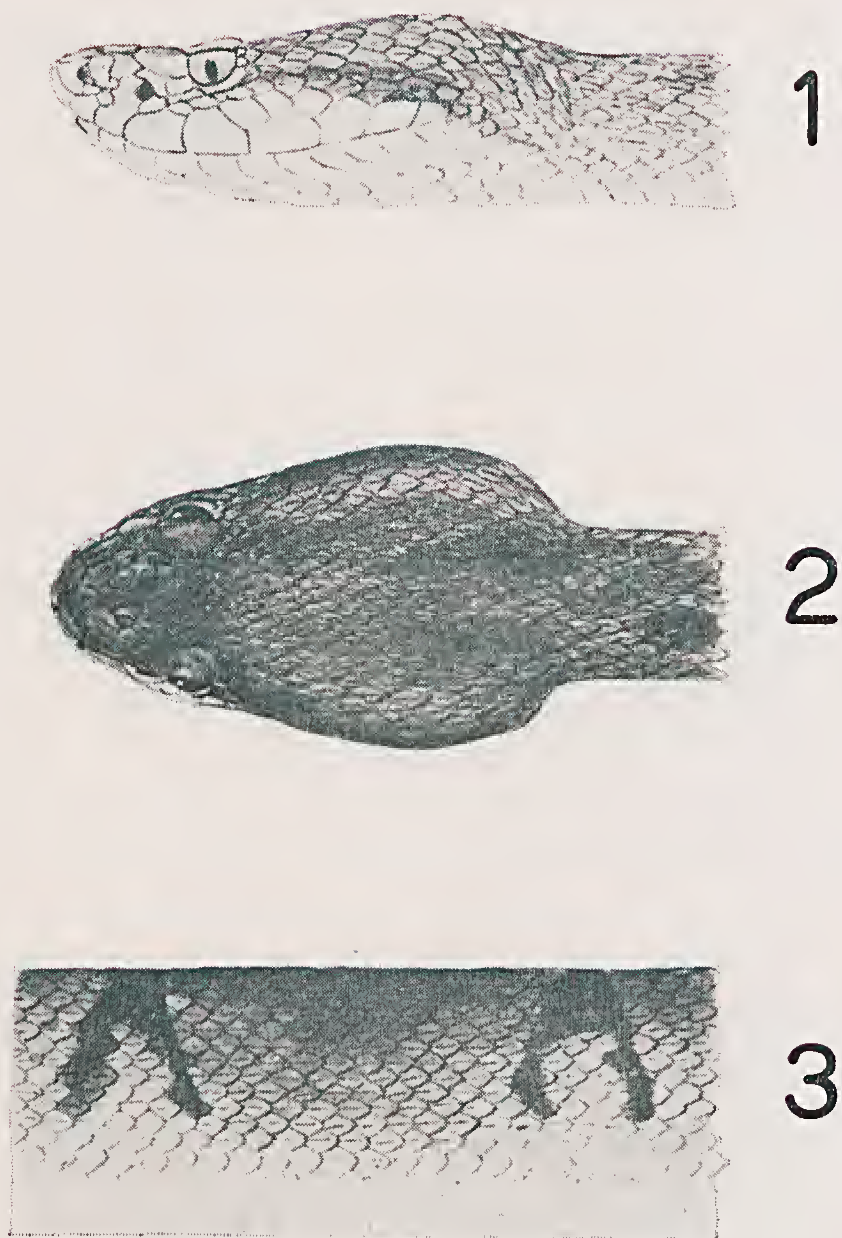




PR. 25

Fig. 1-3 — *Bothrops iglesiasi*



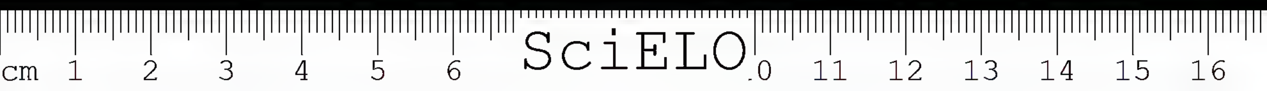


PR. 26

Fig. 1-3 — *Bothrops insularis*

PR. 27

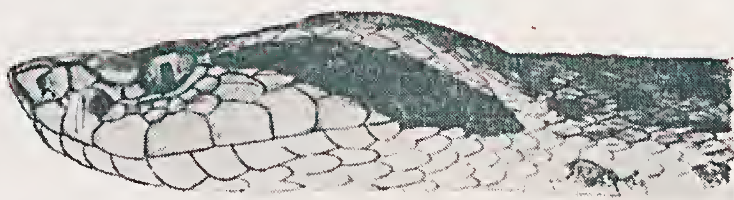
Bothrops itapetiningae



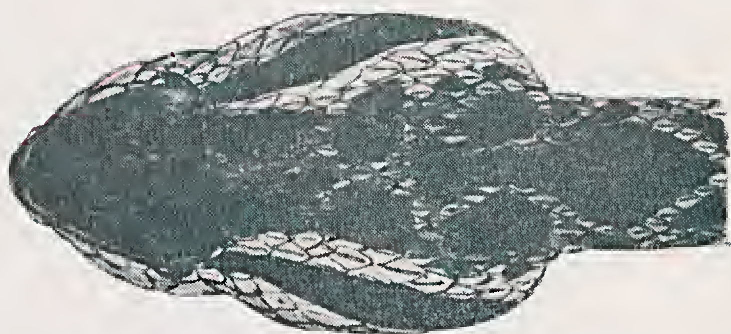
PR. 28

Bothrops jararaca



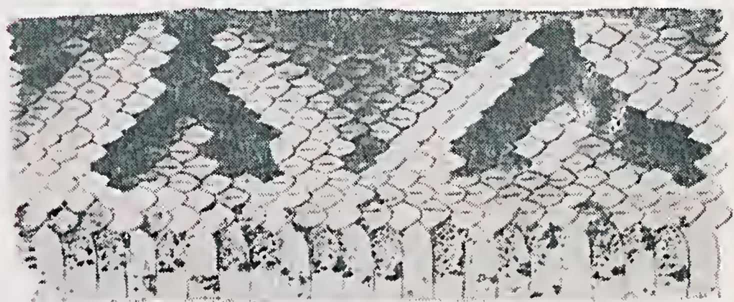


1



2

6 - Bothrops jararaca
Ibiúna - São Paulo
Turma 5 Topógrafos -São Paulo-Light - 25/11/1963



3

PR. 29

Fig. 1-3 — *Bothrops jararaca*

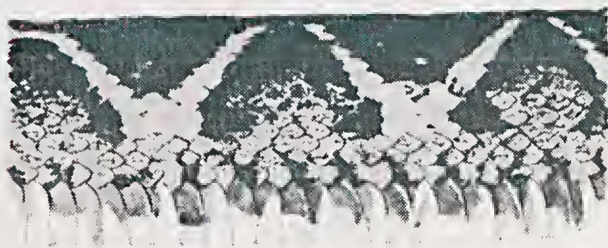


PR. 30

Bothrops jararacussu


1


2


3

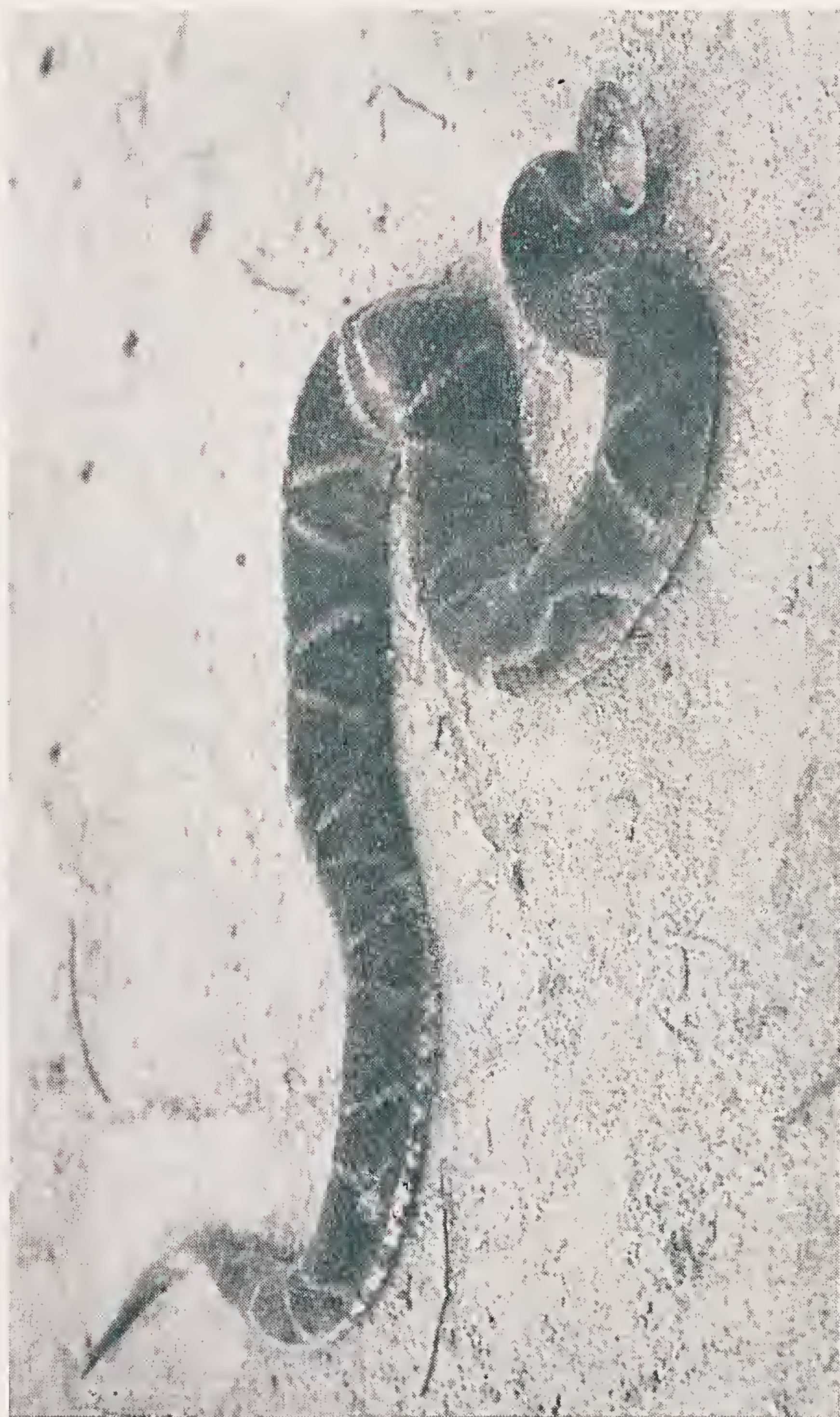
PR 31

Fig. 1-3 — *Bothrops jararacussu*

PR. 32

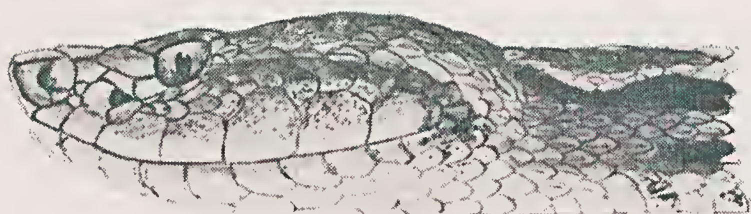
Bothrops leucurus

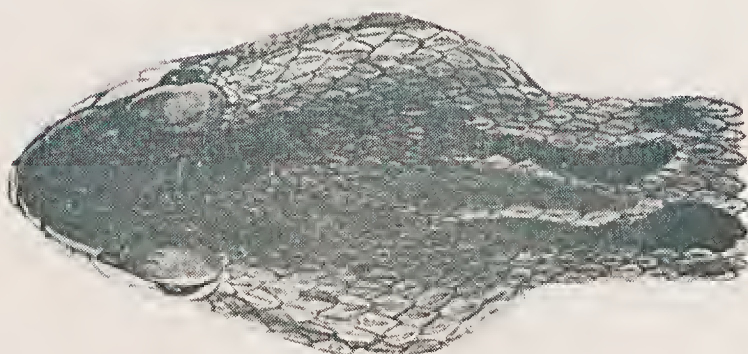


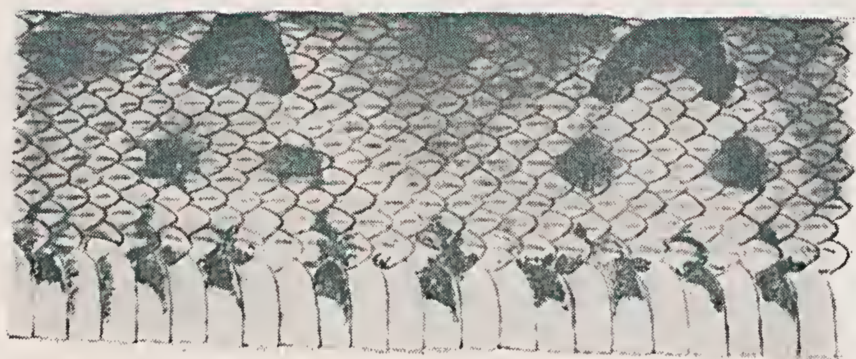


PR. 33

Bothrops moojeni





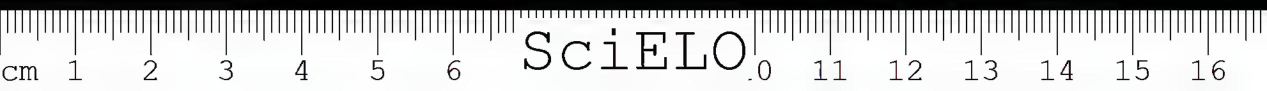


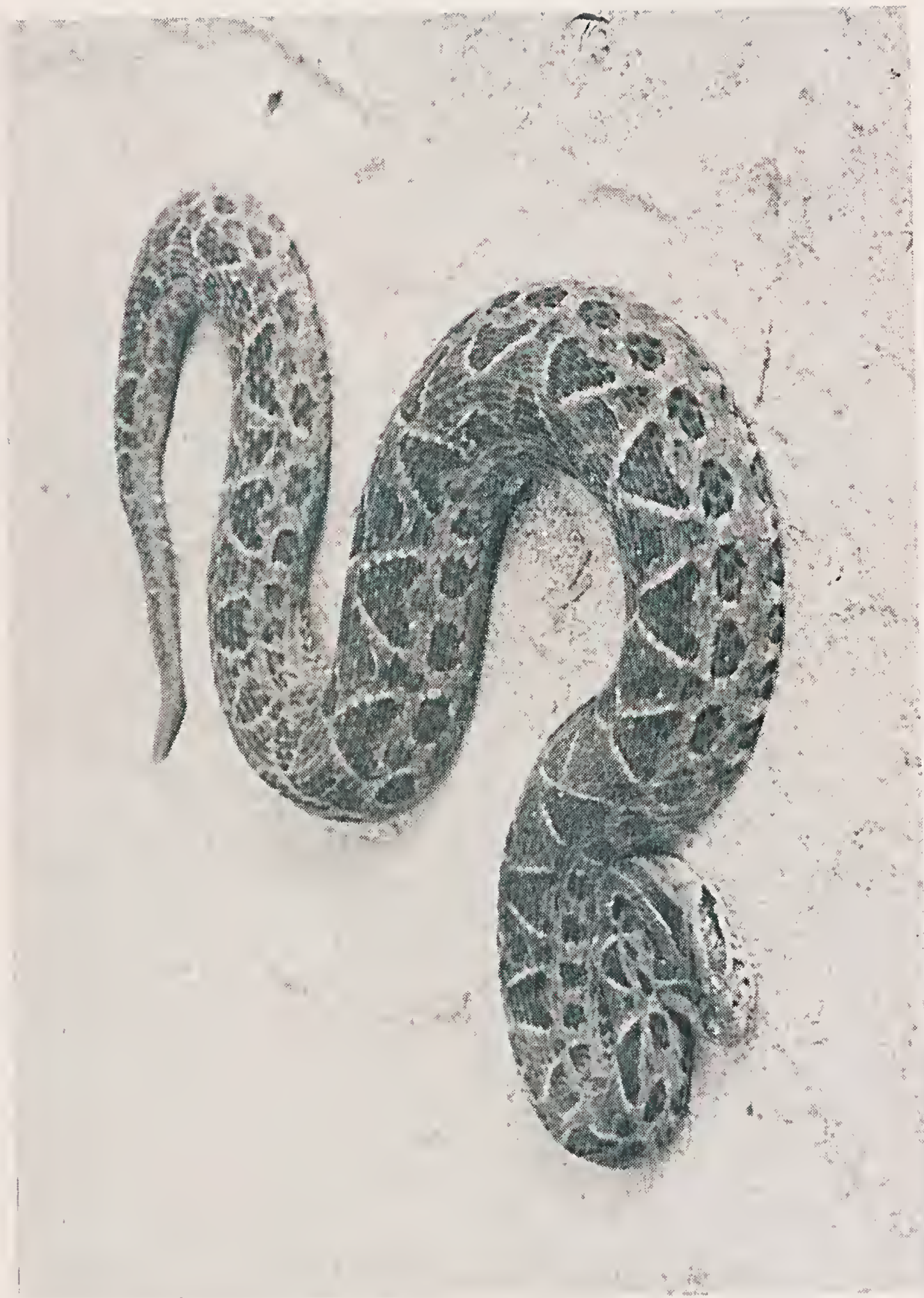
PR. 34

Fig. 1-3 — *Bothrops moojeni*

PR. 35

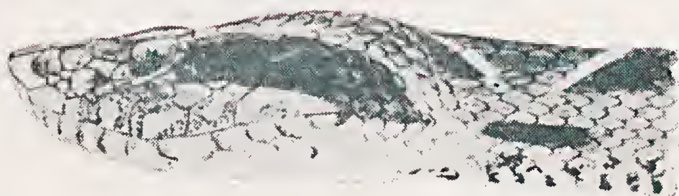
Bothrops neuwiedi

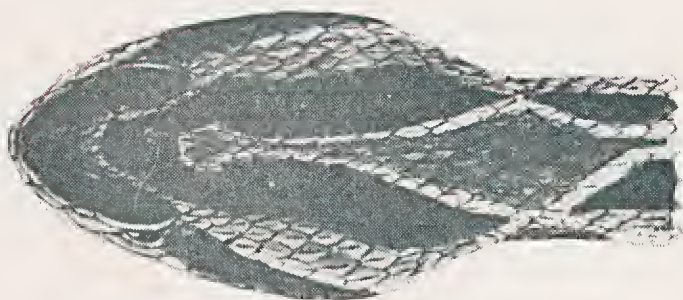


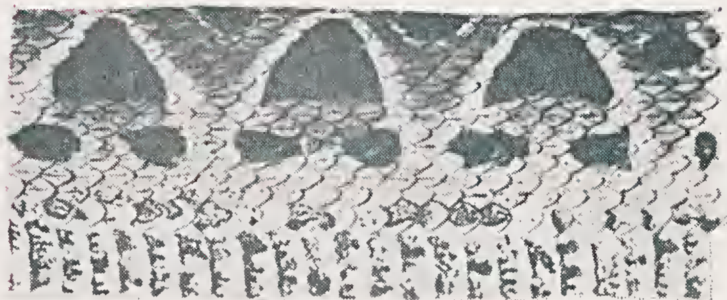


PR. 36

Bothrops neuwiedi diporus

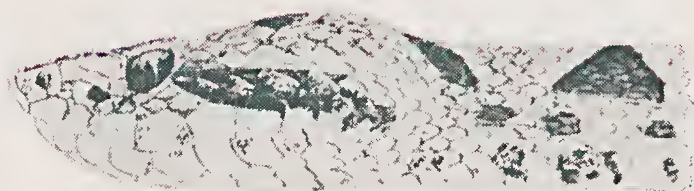


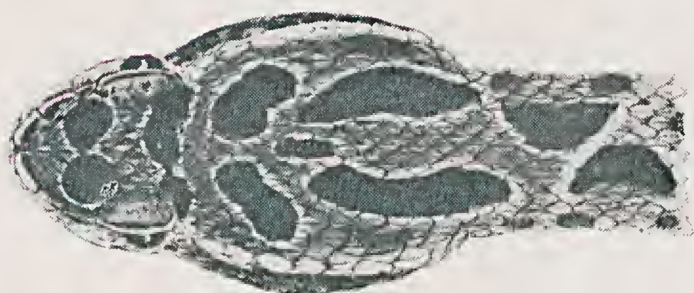




PR. 37

Fig. 1-3 — *Bothrops neuwiedi diporus*

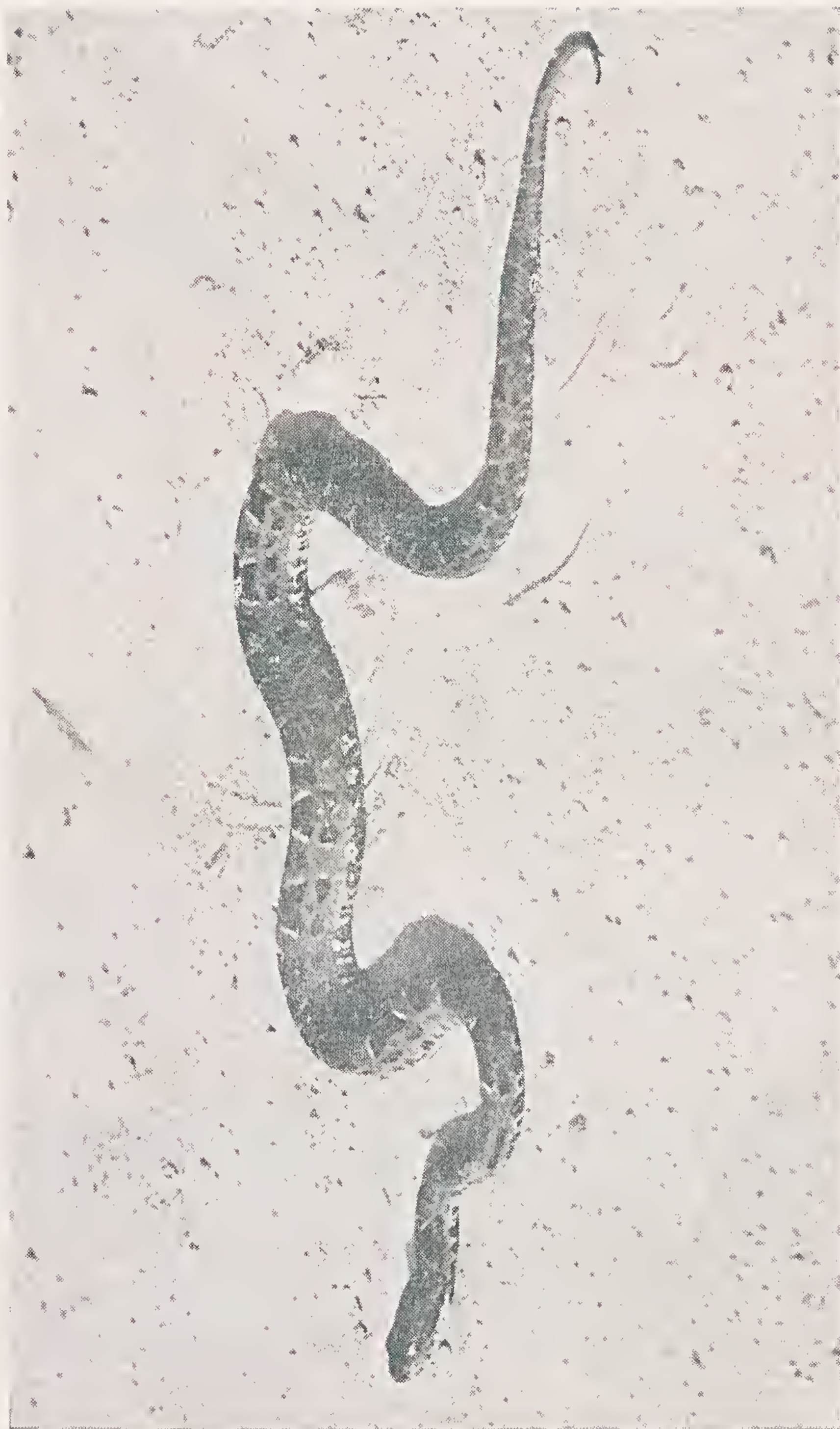






PR. 38

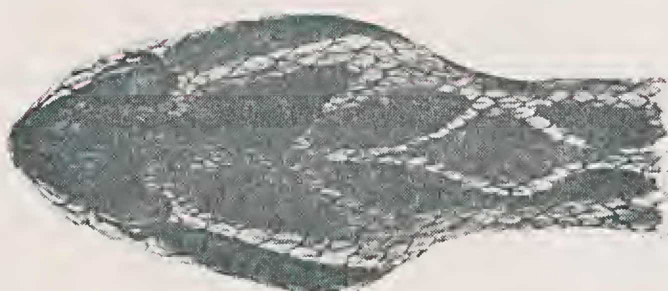
Fig. 1-3 — *Bothrops neuwiedi mattogrossensis*

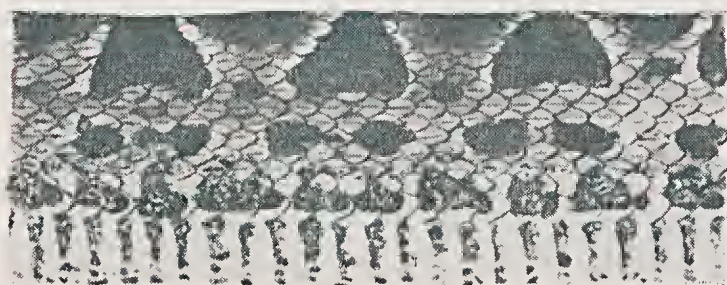


PR. 39

Bothrops neuwiedi pauloensis

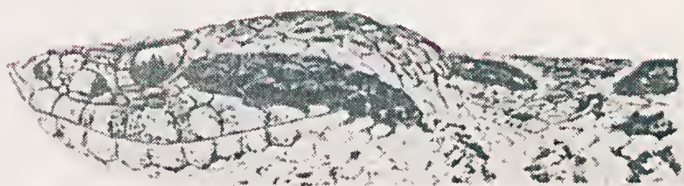


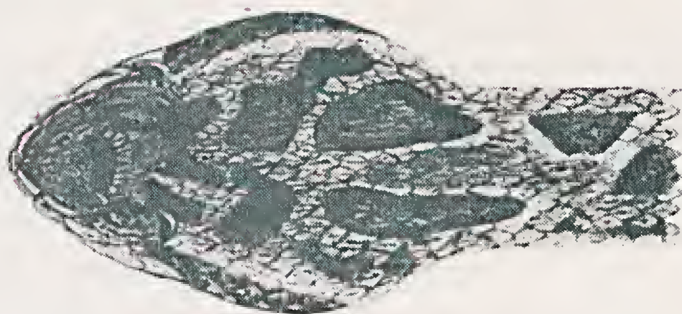


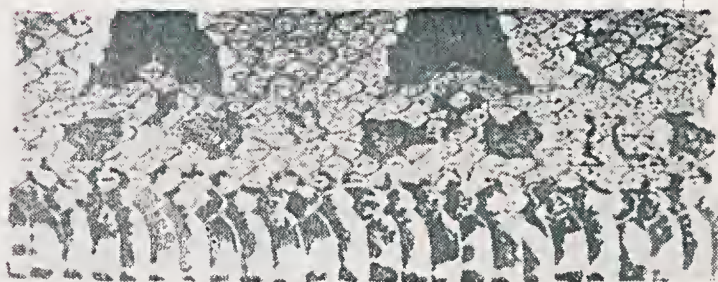


PR. 10

Fig. 1-3 — *Bothrops neuwiedi pauloensis*

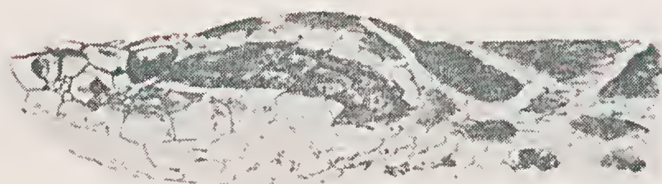


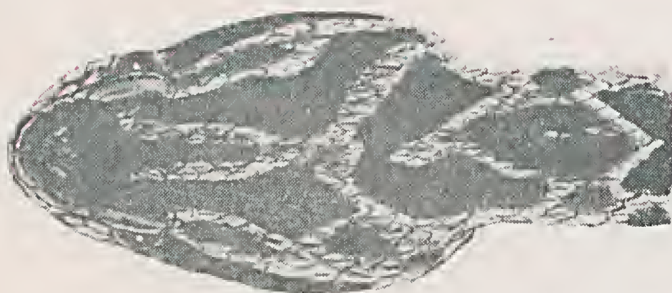


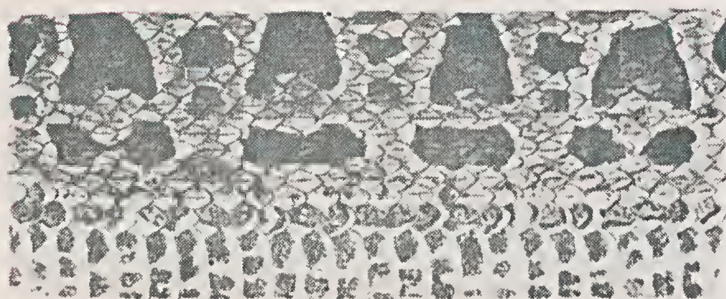


PR. 41

Fig. 1-3 — *Bothrops neuwiedi pubescens*







PR. 42

Fig. 1-3 — *Bothrops neuwiedi urutu*



PR. 43

Bothrops pirajai

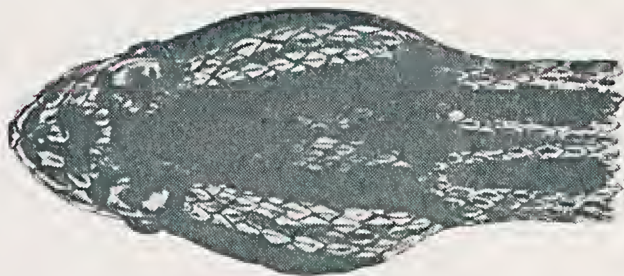


PR. 44

Bothrops pradoi



1



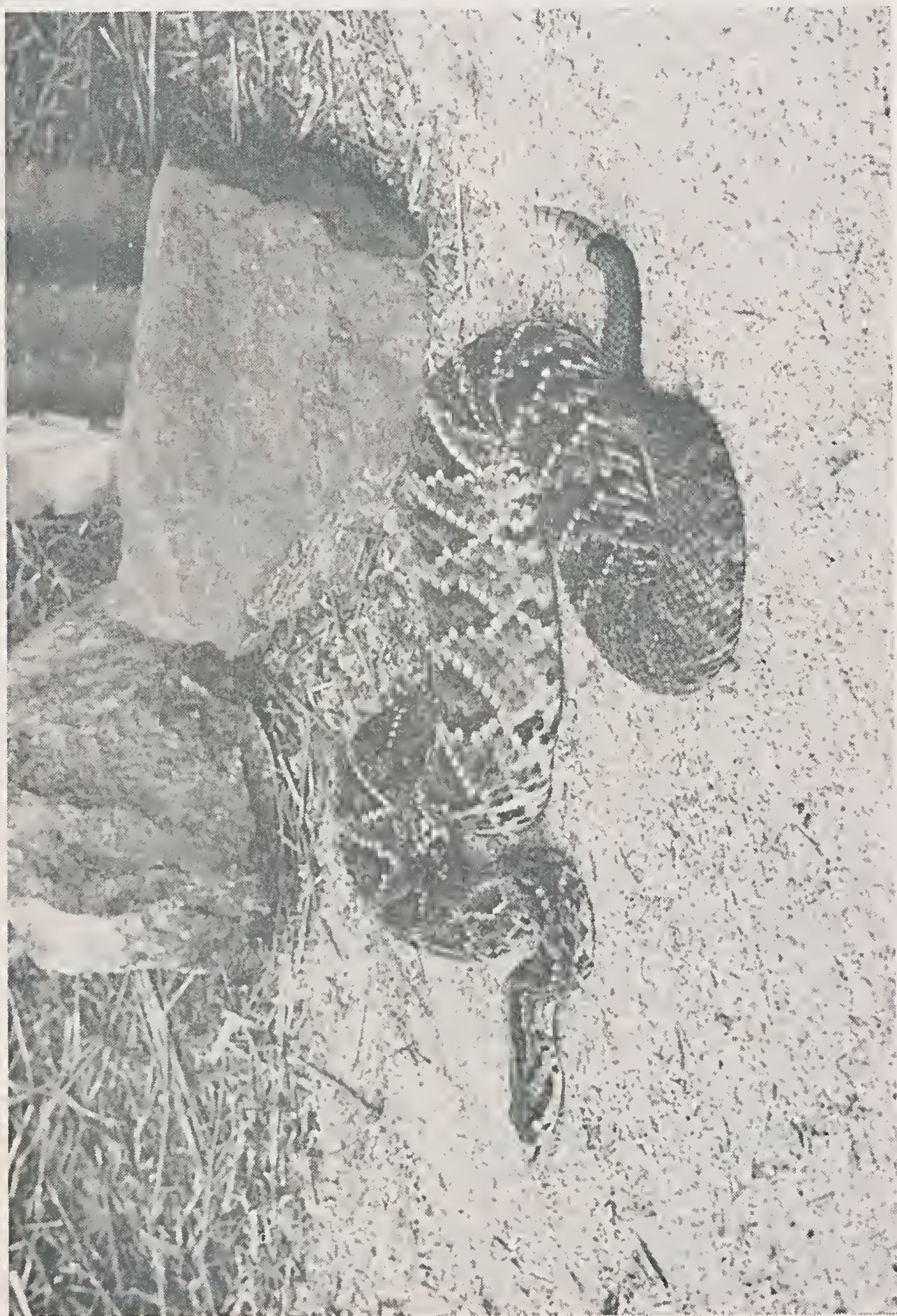
2



3

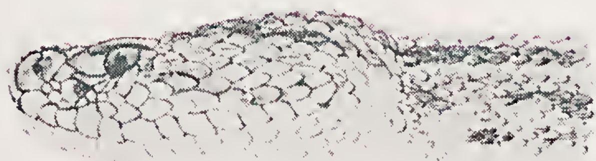
PR. 45

Fig. 1-3 — *Bothrops pradoi*

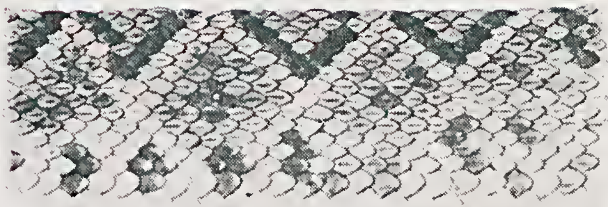


PR. 46

Crotalus [Crotalus] durissus cascavella

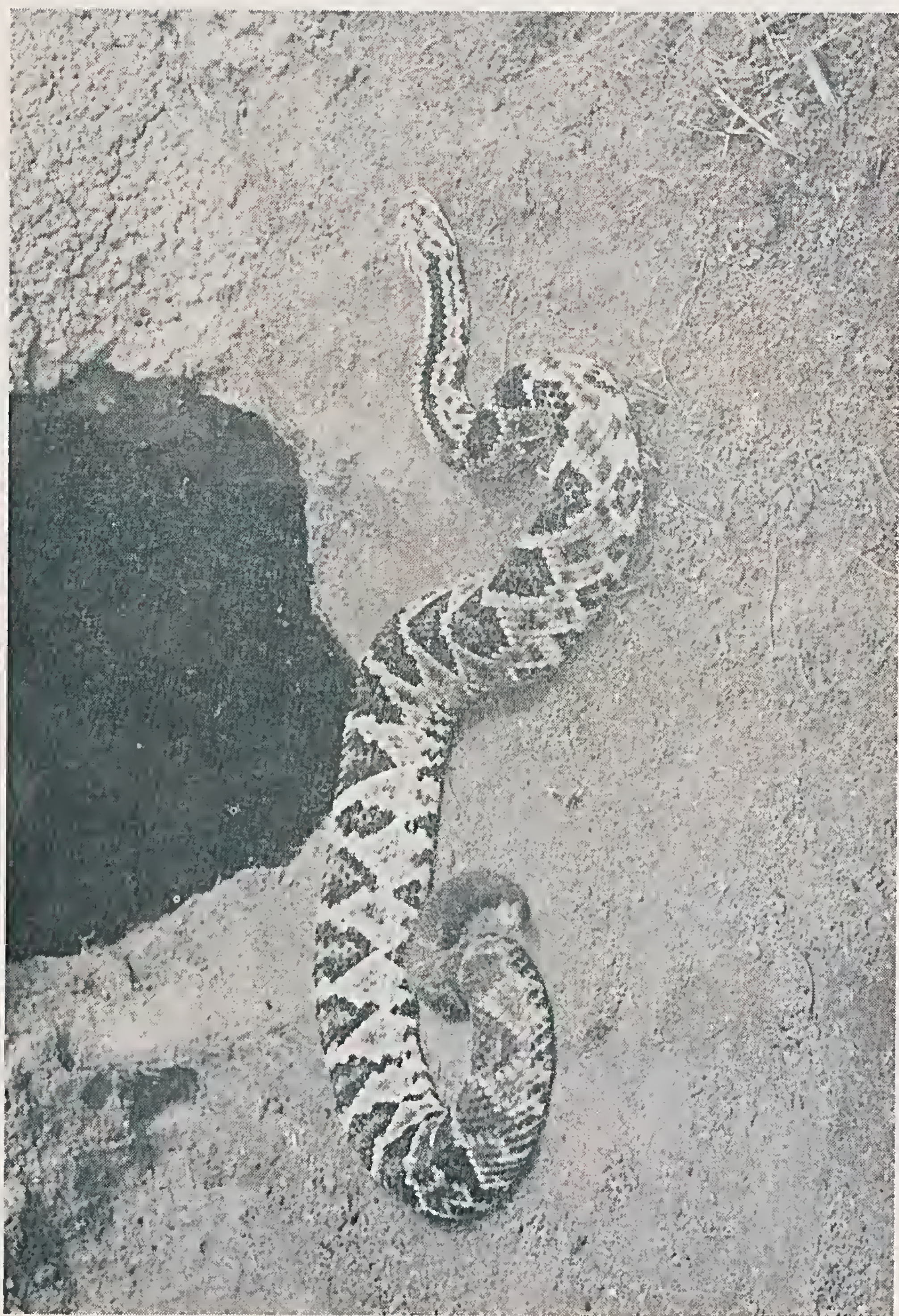




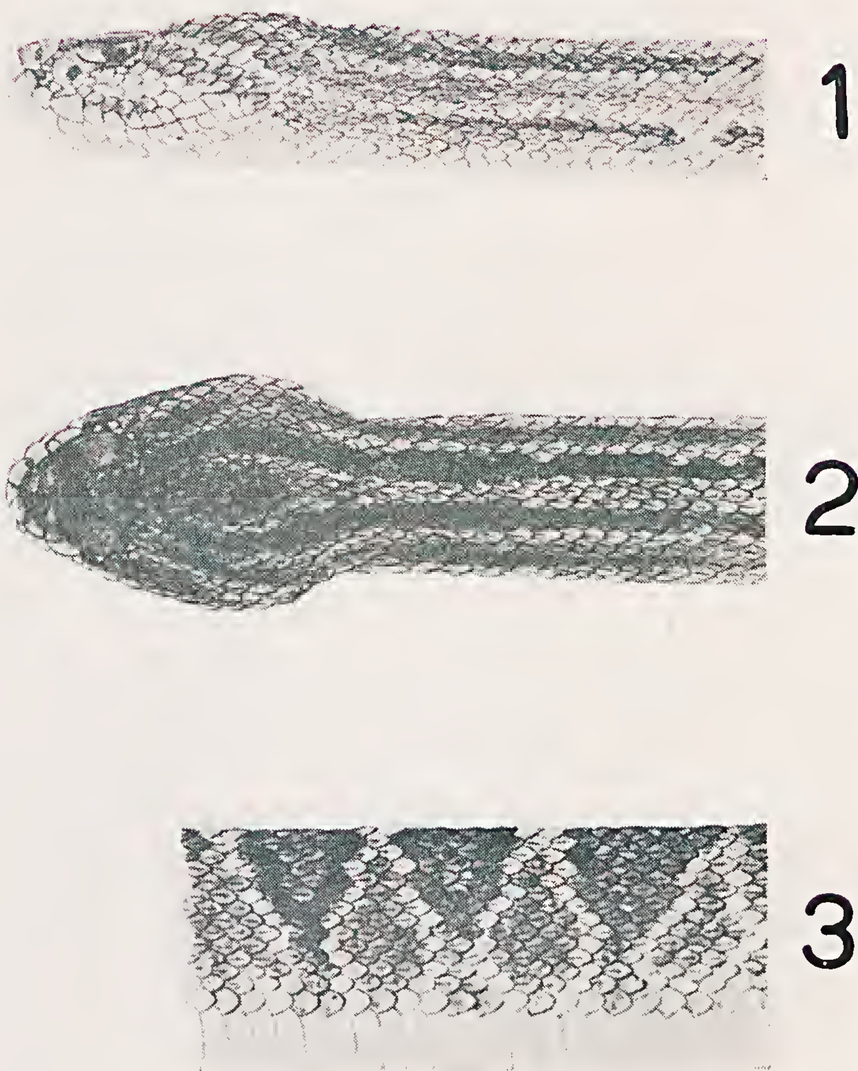


PR. 47

Fig. 1-3 — *Crotalus* [*Crotalus*] *durissus cascavella*

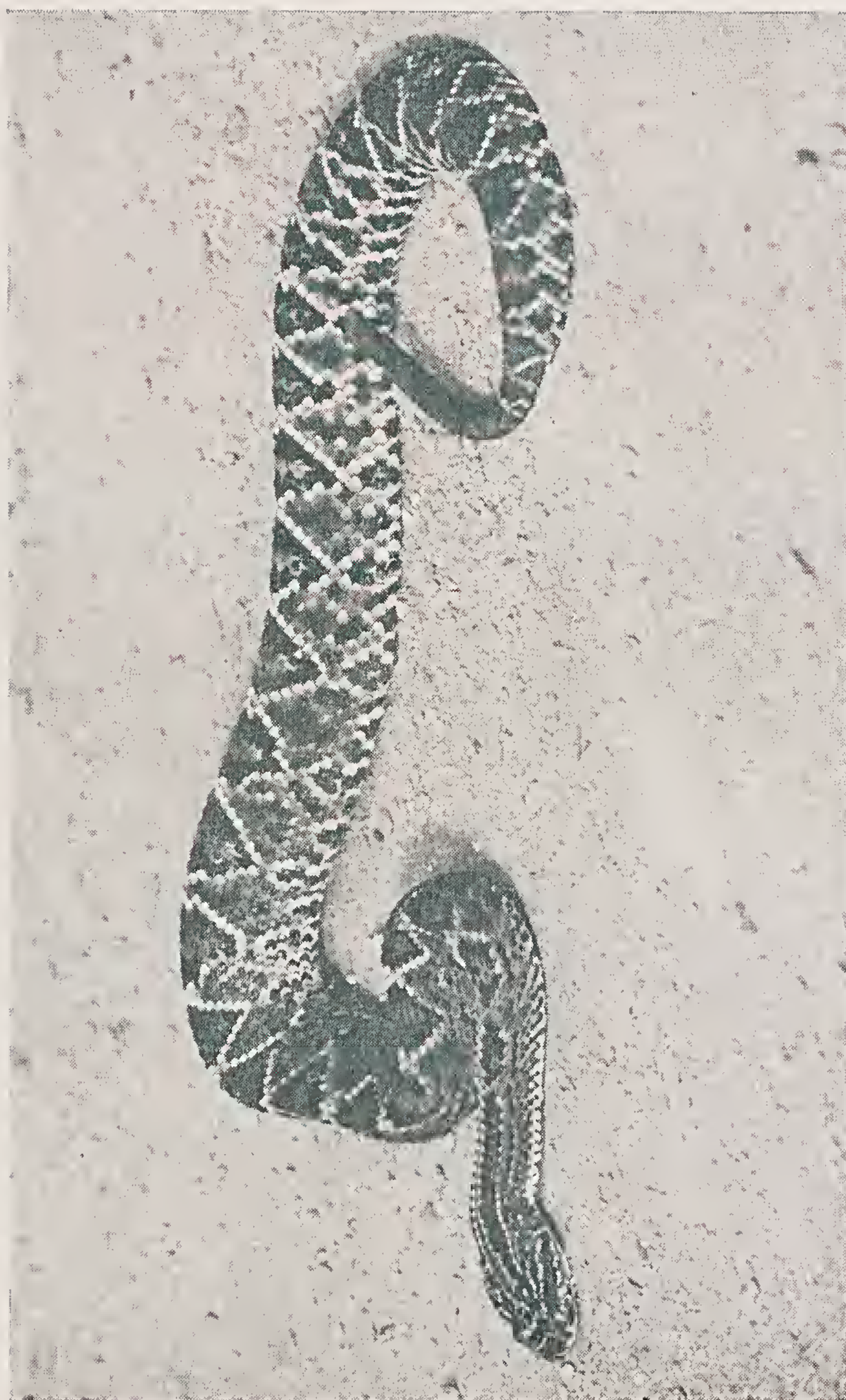


PR. 48
Crotalus [Crotalus] durissus collilineatus



PR. 49

Fig. 1-3 — *Crotalus* [*Crotalus*] *durissus collilineatus*

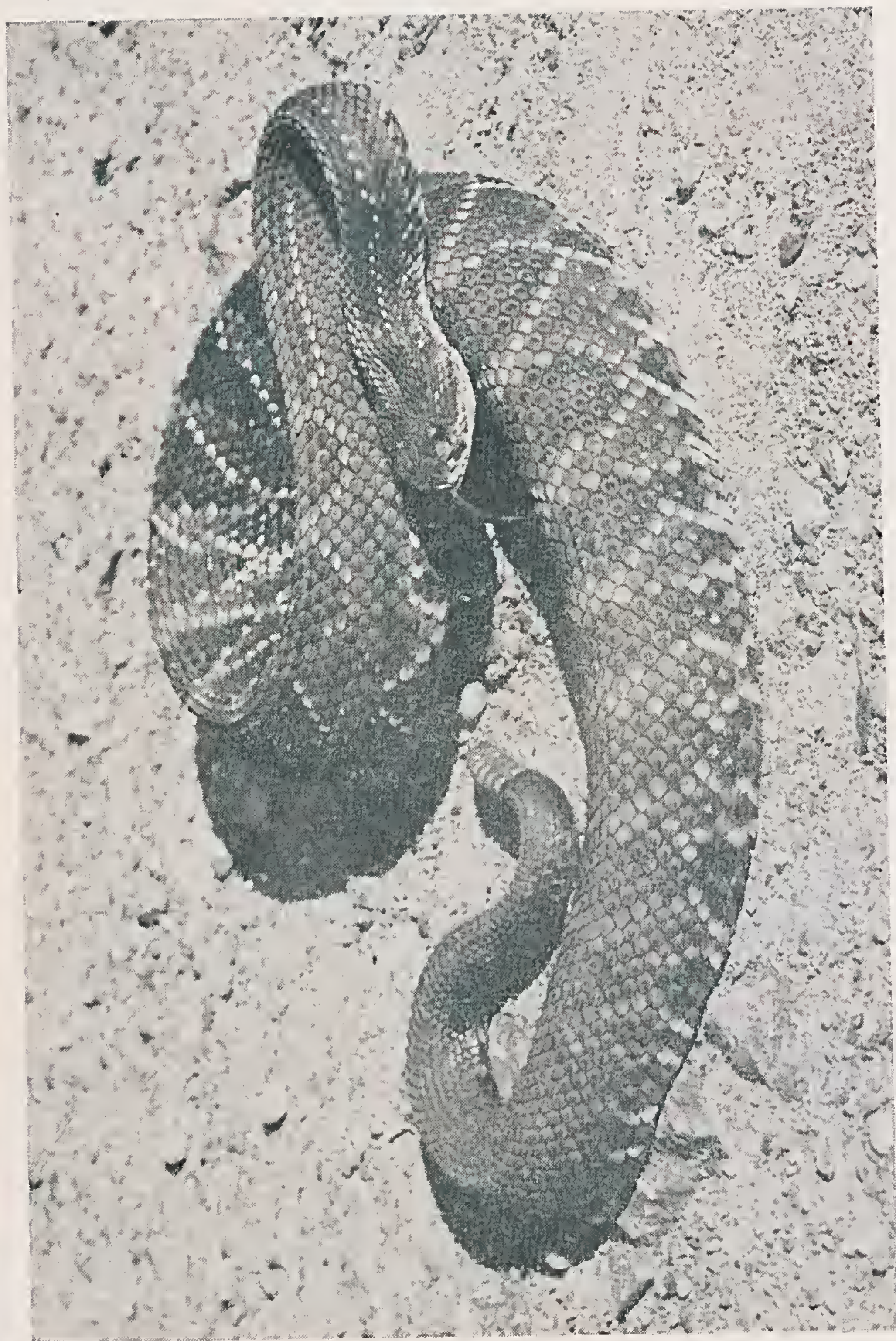


PR. 50
Crotalus [Crotalus] durissus ruruima



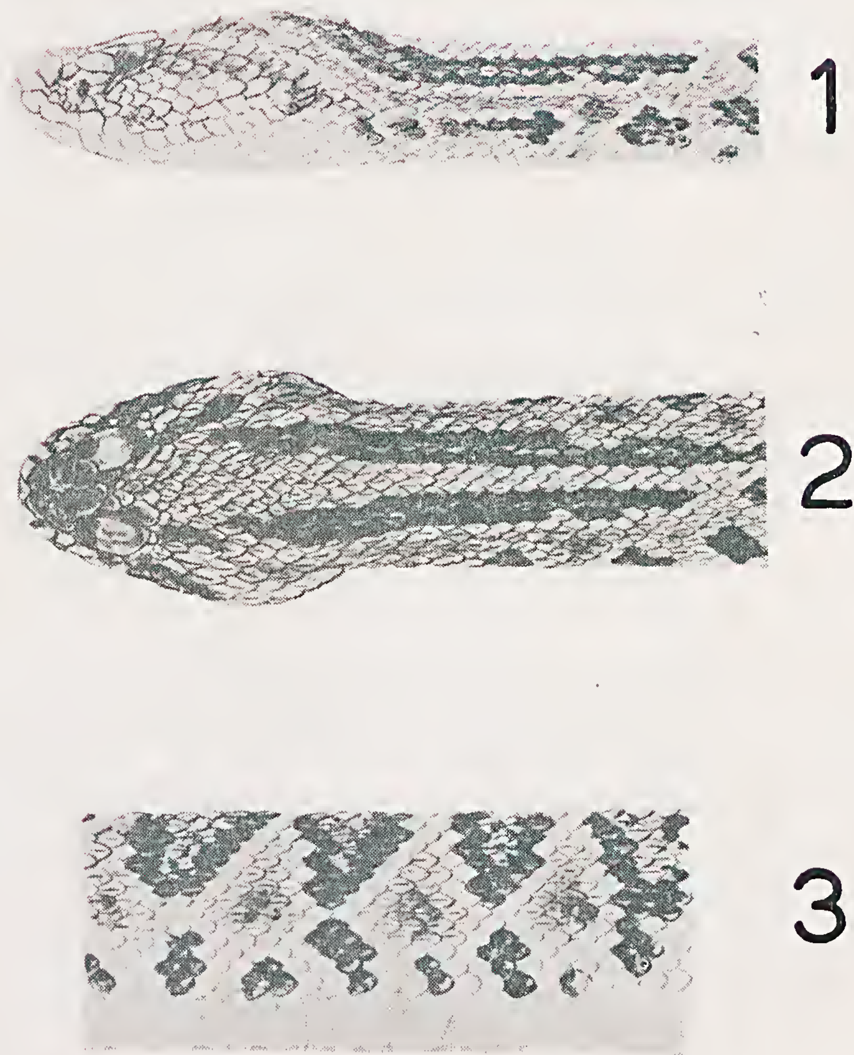
PR. 51

Fig. 1-3 — *Crotalus* [*Crotalus*] *durissus ruruima*



PR. 52

Crotalus [Crotalus] durissus terrificus



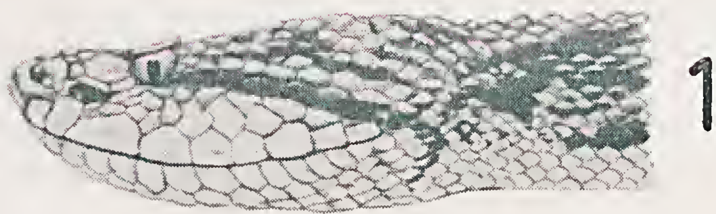
PR. 53

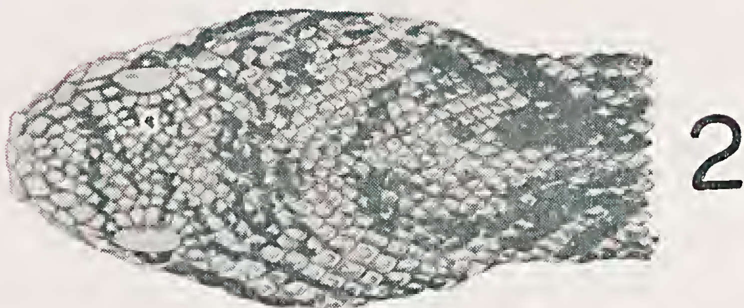
Fig. 1-3 — *Crotalus* [*Crotalus*] *durissus terrificus*

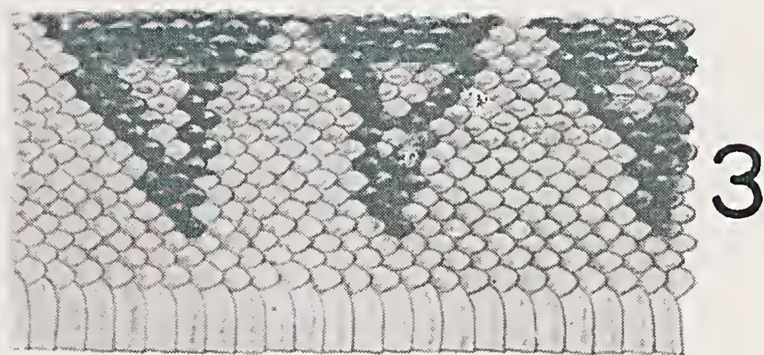


PR. 54

Lachesis muta muta

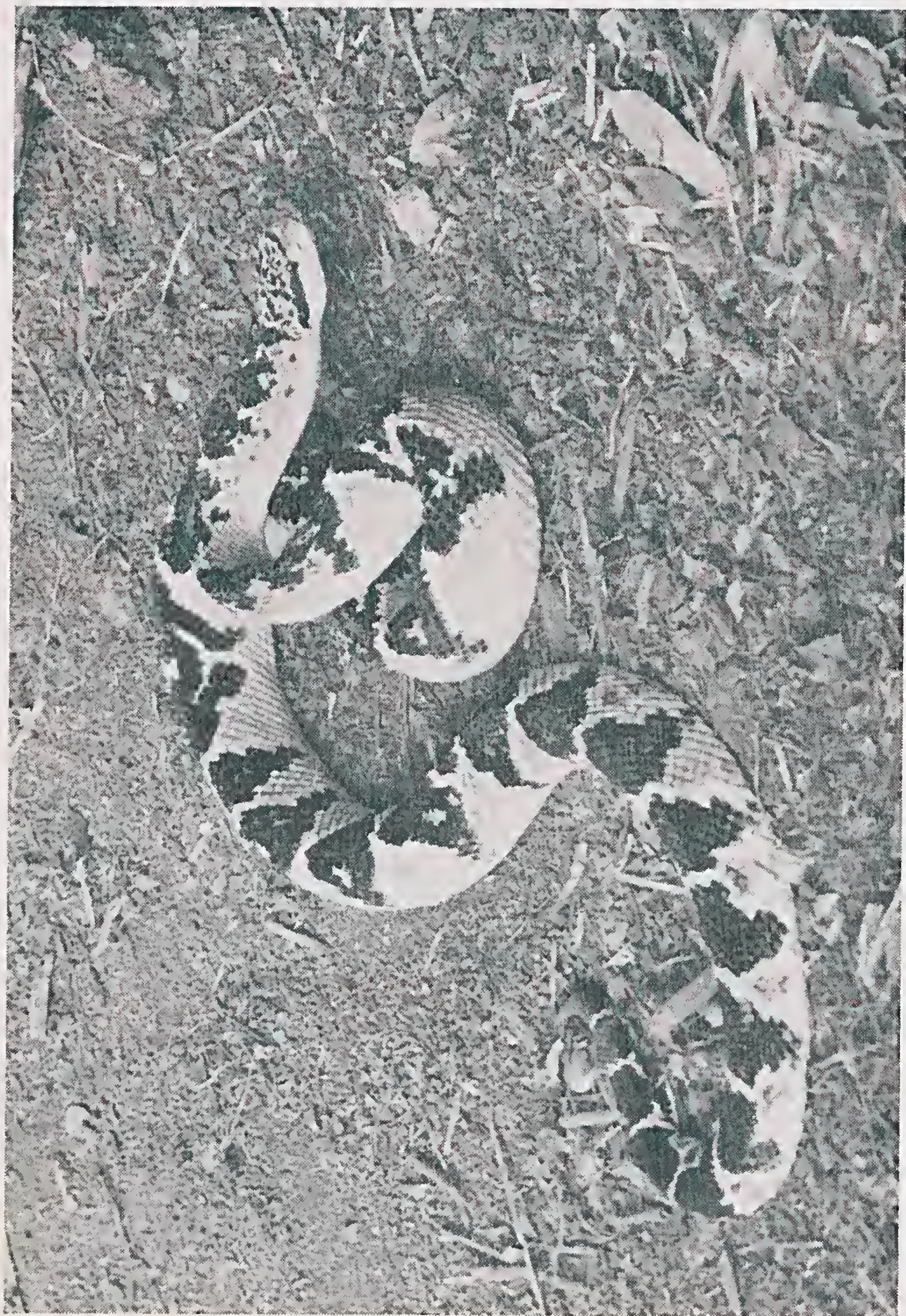






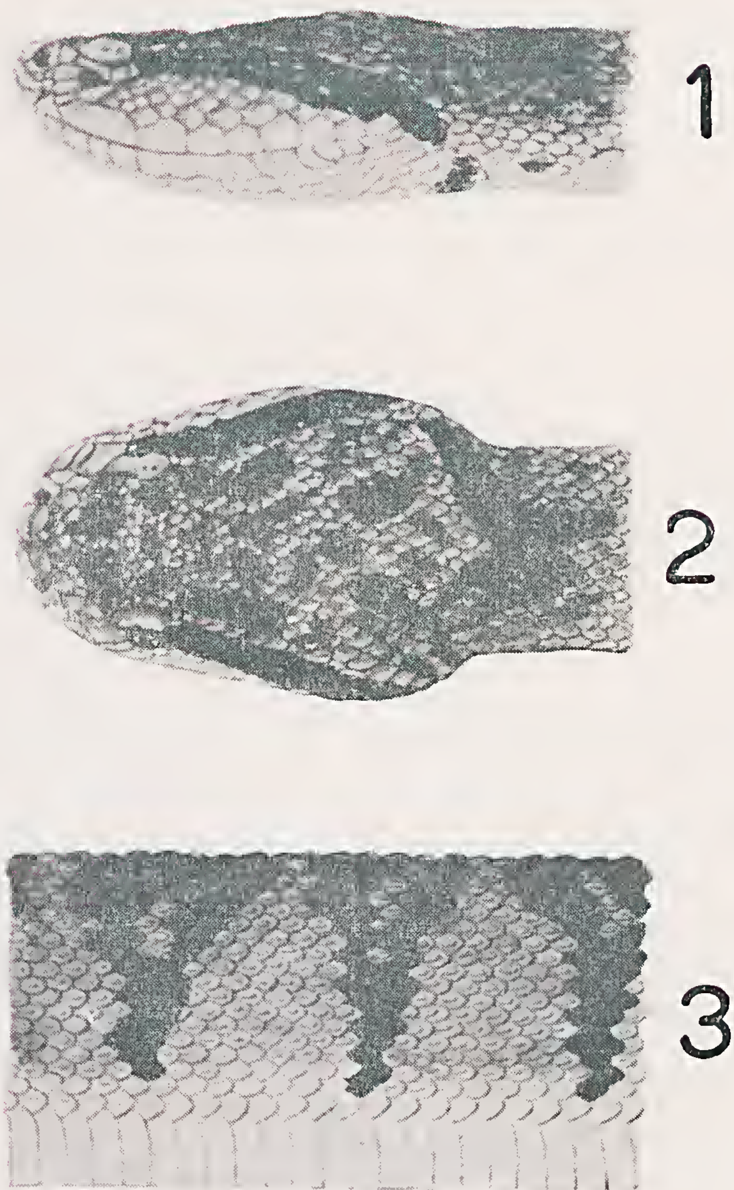
PR. 55

Fig. 1-3 — *Lachesis muta muta*



PR. 56

Lachesis muta noctivaga



PR. 57

Fig. 1-3 *Lachesis muta noctivaga*


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15

Mem. Inst. Butantan
36: 209-214, 1972.

NOTA SOBRE *XENODON* E *OPHIS* SERPENTES COLUBRIDAE

S. ALMA R. W., DE L. ROMANO* e A. R. HOGE*

(Secção de Herpetologia, Instituto Butantan)

RESUMO — *Xenodon merremii* Wagler é considerado gênero distinto de *rophis* nom. nov pro *Ophis* Wagler 1824 pré-ocupado por *Ophis* Turton 1807.

UNITERMOS — *Waglerophis* nom nov. pro *Ophis* Wagler. Diagnose de *Xenodon* e *Waglerophis*.

Durante a revisão de *Xenodon*, a espécie *merremii* demonstrou-se tão diferente das demais espécies que deve constituir gênero à parte.

MATERIAL: de cada uma das seguintes espécies, *Xenodon neuwiedii*, *Xenodon severus*, *Xenodon merremii*, *Xenodon guentheri e Xenodon colubrinus* foram examinados 10 crânios, 4 hemipênis ,além de terem sido dissecadas várias cabeças para o estudo da musculatura. De *Xenodon suspectus e Xenodon bertholdi foi* examinada apenas a dentição.

Xenodon merremii (Wagler) 1824, foi descrito originalmente no gênero *Ophis* passando finalmente para o gênero *Xenodon*. Além de *Ophis* constam na sinonimia de *Xenodon* os gêneros *Acanthophallus* Cope 1893, espécie tipo *Xenodon colubrinus* Günther e *Procteria* Werner 1924, espécie tipo *Procteria viridis*, Eiselt deu um nom. nov. *Xenodom werneri* para *Procteria viridis* Werner pré-ocupado por *Xenodon viridis* Duméril, Bibron e Duméril 1854.

Nenhum destes gêneros é utilizável para a espécie *merremii* por serem sinônimos de *Xenodon* Boie 1926 cuja espécie tipo é *Coluber severus* Linnaeus.

As peculiaridades do aparelho de mordedura de *Xenodon merremii* chamamaram repetidamente a atenção de: Boulenger, E. G. 1915; Haas, G., 1931; Anthony, J. 1955 e Anthony & Serra 1951. É curioso notar que todos esses dados se referem a espécie *merremii* e não houve comparação com as outras espécies do gênero.

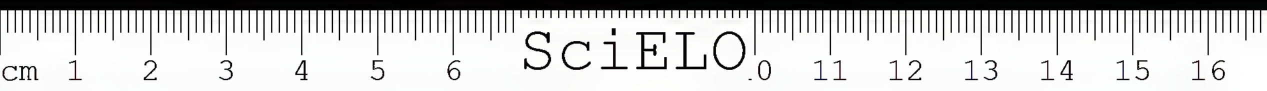
Em virtude de *Ophis* Wagler 1824 estar pré-ocupado por *Ophis* Turton 1807, torna-se indispensável um nom. nov. pro *Ophis* Wagler 1824.

Waglerophis nom. nov.

Espécie tipo: *Ophis merremii* Wagler 1824

Diagnose: Colubridae, opistomegadonte com maxilar verticalmente erétil (fig. 6); maxilar curto provido de 6-7 ÷ 1 dente com o processo palatino quase

* Trabalho auxiliado pelo C.N.Pq e National Library of Medicine.



em contato com a base da presa posterior (Pr. 1 fig. 8); parietal mais longo do que largo (Pr. I fig. 7); com a parte de tendão do cérvico mandibular não prolongado até à articulação quadrato-mandibular (Pr. 2 fig. 2); hemipênis fortemente bifurcado com disco apical e sulco espermático dividido (Pr. 3 fig. 5). Difere do gênero *Xenodon* pelo formato e função do cérvico-maxilar (Pr. 2, fig. 2); pelo menor número de dentes maxilares 6-7 ao invés de 10-16 (figs. 3 e 8) e pelo formato do ectopterigóide (figs. 2, 5, 7 e 10).

Em *Waglerophis* o cérvico-mandibular que tem origem comum com o cérvico-maxilar, desce para baixo e para frente dividindo-se em dois corpos:

1 — *Cérvico maxilar* (Pr. 2, fig. 2). O cérvico-maxilar é muito mais desenvolvido do que o cérvico-mandibular com o qual tem origem comum, dirige-se para frente passando acima do quadrato recobrindo grande parte do digástrico (Pr. 2, fig. 2). Na altura do digástrico e temporal posterior as suas fibras convergem formando o tendão que vai se inserir na parte posterior do maxilar atrás da articulação maxilo-ectopterigóide. Na altura da formação do tendão o cérvico-maxilar é cruzado por um pequeno feixe muscular originado nas aponevcóses do digástrico e temporal posterior, e se insere na pele.

A separação entre o cérvico-maxilar e o cérvico-mandibular já é completa à altura onde ambos cruzam o cérvico-esquamosal (cérvico-supra-temporal).

2 — *Cérvico-mandibular* dirige-se lateralmente e se insere diretamente na parte superior da extremidade distal da mandíbula (Pr. 2, fig. 2).

Em *Xenodon, o* cérvico-maxilar se separa do cérvico-mandibular depois de cruzar o cérvico-esquamosal. As suas fibras ao invés de se dirigirem francamente para frente, o fazem lateralmente indo inserir-se no ligamento que vai do maxilar até à articulação quadrato-mandibular (Pr. 2 fig. 1).

Dos *Xenodontinae* a musculatura de *Lystrophis* (Pr. 3, fig. 3) é a que mais se aproxima do observado em *Xenodon* (Pr. 2, fig. 1) e será discutido em detalhe noutra nota.

ABSTRACT — *Xenodon merremii* (Wagler) is considered as belonging to a distinct genus, *Waglerophis* nom. nov pro *Ophis* Wagler 1824 preocupied by *Ophis* Turton 1807.

UNITERMS — *Waglerophis* nom. nov. pro *Ophis* Wagler. *Xenodon, Waglerophis* diagnosis.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Bolsa do Conselho Nacional de Pesquisas e ao National Library of Medicine Grant LM 00418-01. Ao Sr. João D. Cavalheiro, os desenhos.

BIBLIOGRAFIA

ANTHONY, J. — Essai sur l'evolution anatomique de l'appareil venimeux des ophidiens. *Ann. de Sc. Nat. Zool.*, 11 serie: 1-53, 1955.

ANTHONY, J. e Serra, R. — Sobre uma particularidade do aparelho mordedor numa serpente aglipha da América Tropical, *Xenodon merremii An. Fac. de Farm. e*

ANTHONY, J. e Serra, R. — Anatomie de l'appareil de la morsure chez *Xenodon Odont.* USP, **VII**, 1948-49

ANTONY, J. e Serra, R. — Anatomie de l'appareil de la morsure chez *Xenodon merremii* B., serpent aglyphe de l'Amerique Tropicale, *Arquivos do Museu Nacional*, vol. **XLII**: 21-48, 15 est., 1951

BOULENGER, E. G. — On a colubrid snake (Xenodon) with a vertically movable maxillary bone. *Proc. of the Zool. Society of London*, 1915 83-85

EISELT, J. — Zur Kenntnis der colubriden Schlangengattungen *Procteria* und *Xenodon*, *Ann. Naturhist. Mus. Wien*, 66: 279-282, 1963

HAAS, G. — Über die Morphologie der Kifermuskulatur und die Schädelmechanik einiger Schlangen. *Zool. Jahrb. Anat. Jena*, 45: 333, 1931

Recebido para publicação em 30/6/72

Aceito para publicação em outubro/72



ROMANO, S. A. R. W. e HOGE, A. R. — Nota sobre *Xenodon* e *Ophis*. Serpentes colubridae.
Mem. Inst. Butantan, *36*: 209-214, 1972.

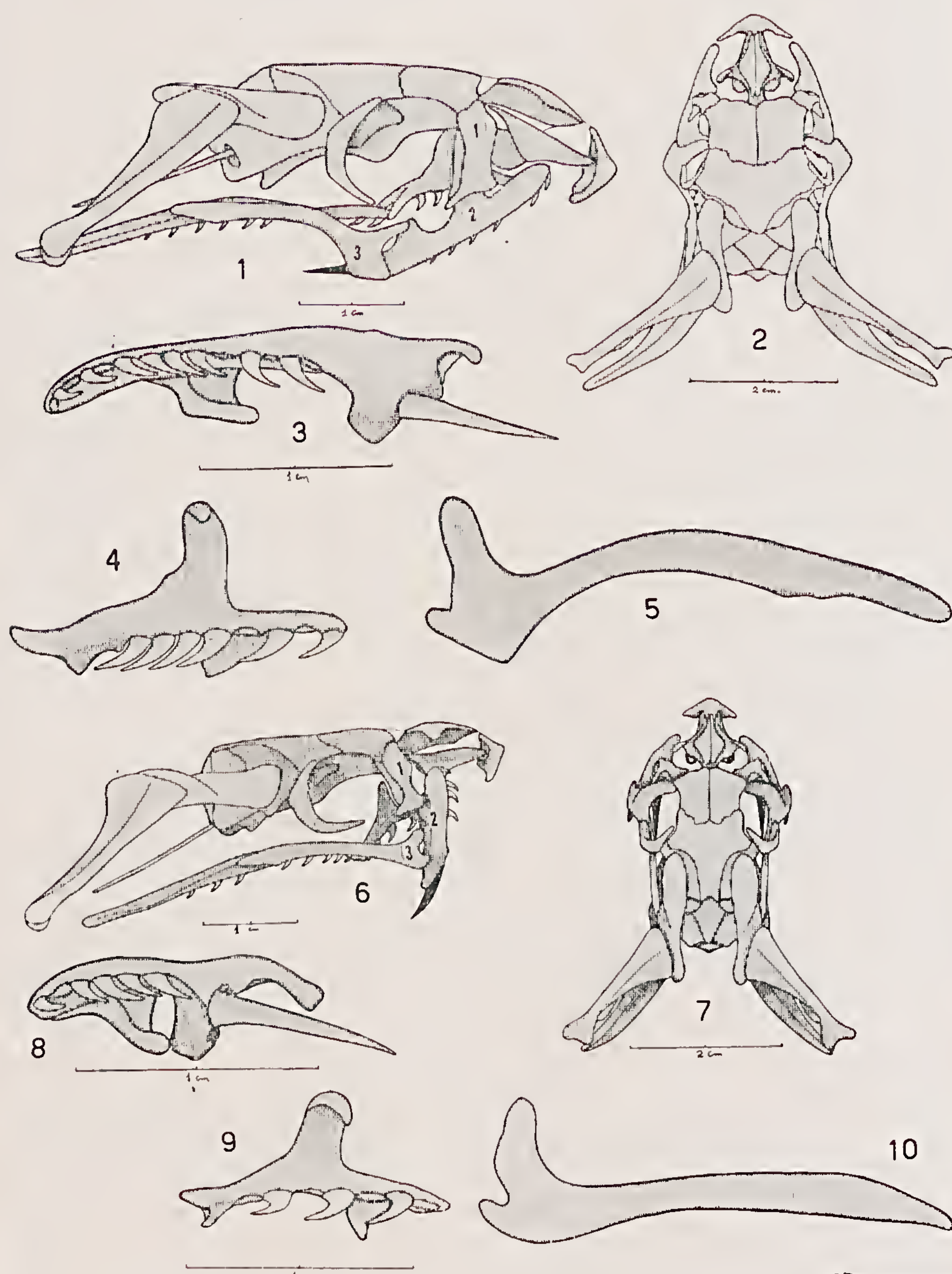
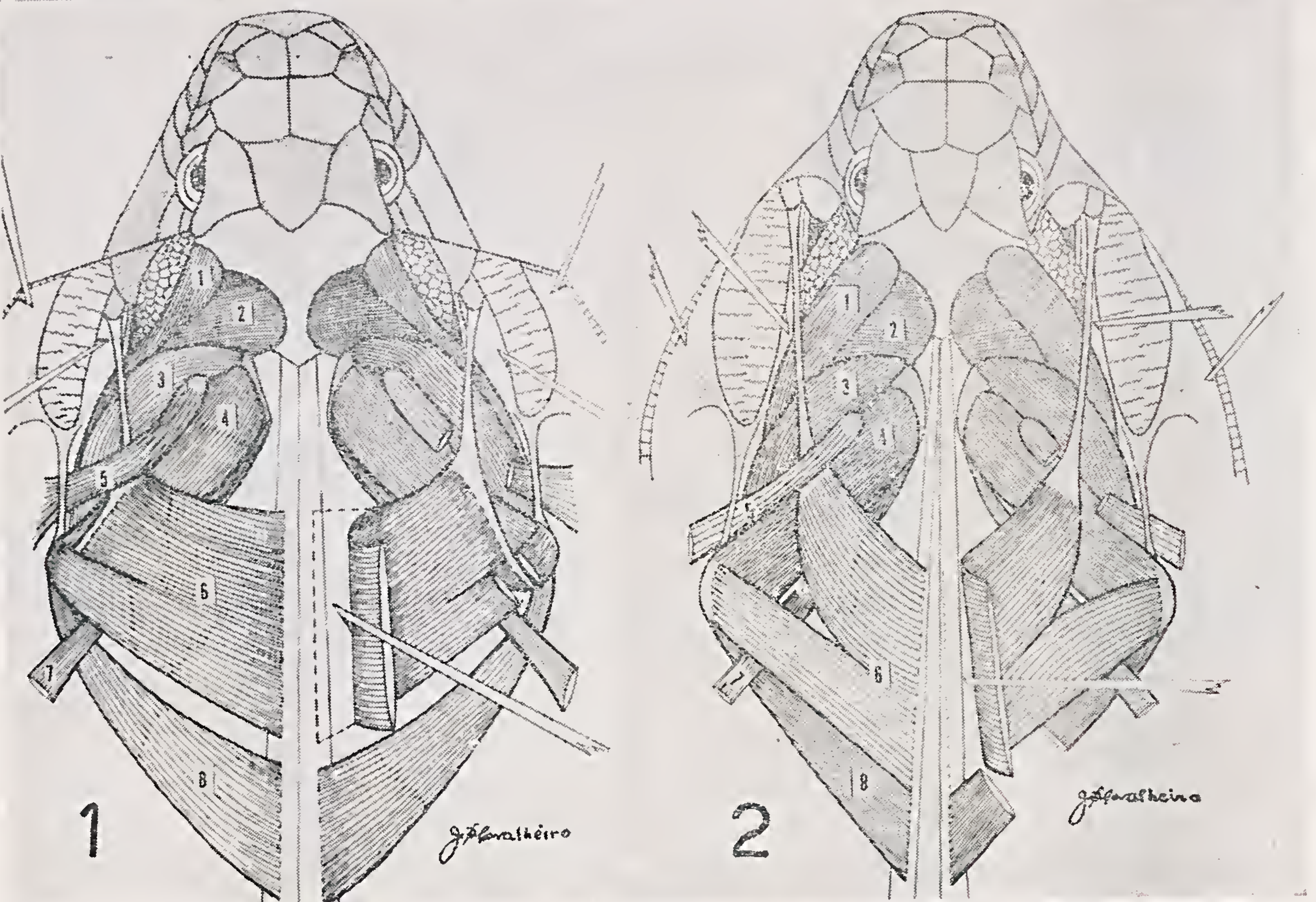


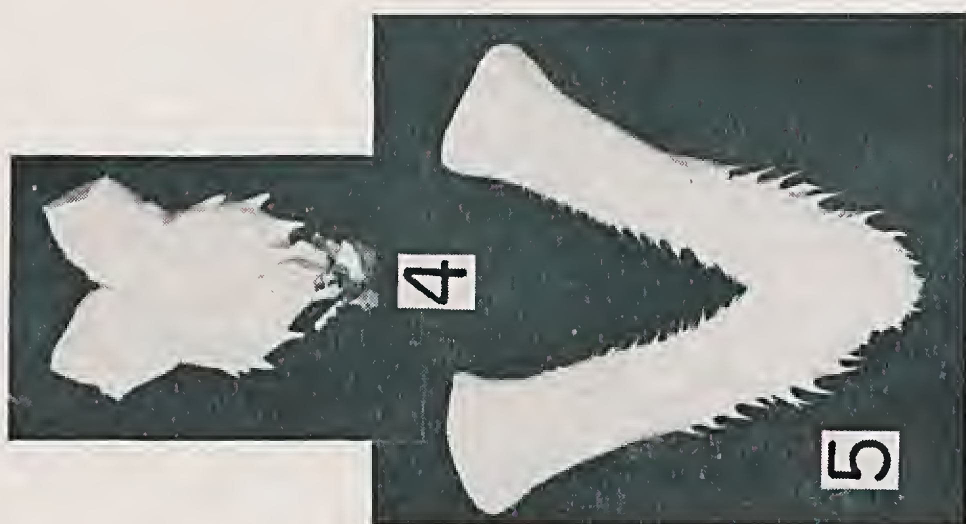
Fig. 1 — *Xenodon severus*
1 — preocular
2 — maxilar
3 — ectopterigóide
Fig. 2 — *Xenodon severus*
Fig. 3 — *Xenodon severus* maxilar
Fig. 4 — *Xenodon severus* palatino
Fig. 5 — *Xenodon severus* ectopterigóide

Fig. 6 — *Xenodon merremii*
1 — preocular
2 — maxilar
3 — ectopterigóide
Fig. 7 — *Xenodon merremii*
Fig. 8 — *Xenodon merremii* maxilar
Fig. 9 — *Xenodon merremii* palatino
Fig. 10 — *Xenodon merremii* ectopterigóide



Figs. 1 e 2

1 — Temporal anterior
2 — Temporal médio
3 — Temporal posterior
4 — Orgástrico
5 — Feixe muscular que se insere na pele (às vezes ausente)
6 — Cérvico-mandibular, com os 2 corpos musculares: (o anterior, cérvico-maxilar e o posterior cérvico-mandibular seg. Anthony e Serra).
7 — Cérvico-supra-temporal (cérvico-esquamosal seg. Anthony e Serra)
8 — Vértebro-mandibular



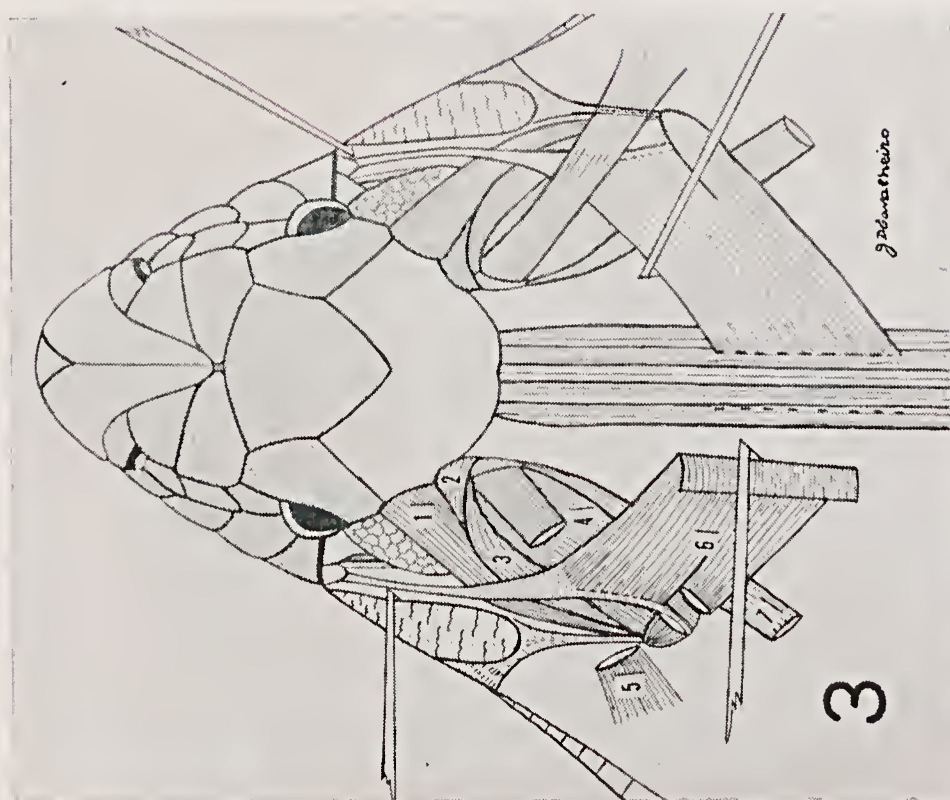


Fig. 3 — *Lystrophis dorbignyi*
Fig. 4 — Hemipênis de *Xenodon severus*
Fig. 5 — Hemipênis de *Waglerophis merremii*

Mem. Inst. Butantan
36: 215-220, 1972.

LIOPHIS MOSSOROENSIS nov. sp. do BRASIL [SERPENTES: COLUBRIDAE]

ALPHONSE RICHARD HOGE
JOSÉ SANTIAGO LIMA-VERDE*

(Seção de Herpetologia, Instituto Butantan)

RESUMO — Descrição de *Liophis mossoroensis* afim de *Liophis purpurans*.

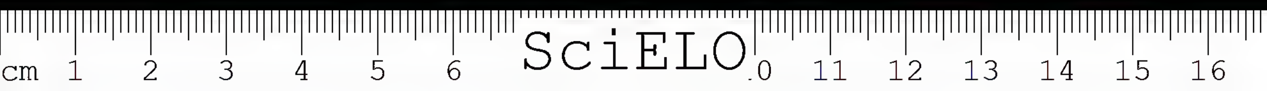
UNITERMOS — *Liophis mossoroensis* sp. n. afim de *Liophis purpurans*.

Ao estudarmos o material herpetológico procedente dos Estados do Ceará e Rio Grande do Norte (Brasil), despertou-nos a atenção algumas serpentes pertencentes ao gênero *Liophis* Wagler, 1830, ainda não descritas.

Liophis mossoroensis sp. nov.

Descrição do holótipo: IBH n.º 32.078, macho; procedente de Mossoró, RN; rostral mais larga do que alta, visível de cima e em contato com as internasais, nasais anteriores e primeira supralabial; é ligeiramente mais elevada do que as internasais; as nasais anteriores e as supralabiais apresentam o bordo superior preto e cor amarela em toda sua extensão; sua forma é semelhante a uma ferradura; nasais: *a anterior* com o bordo posterior côncavo e o anterior convexo, contorno quadrangular, cor amarela com os bordos superior e posterior escuros; a *posterior* tem forma grosseiramente retangular, de cor preta, com bordo antero-superior côncavo; internasais: grandes, de cor preta, com bordo latero-externo pontiagudo comunicando-se com a narina; prefrontais: duas vezes mais longas do que as internasais, pretas nos bordos e amareladas no centro; loreal, de forma quadrática, cor amarela e bordo inferior escuro; uma preocular, em forma de clava, amarela escura com bordos antero-superior e superior pontiagudos; supraocular, mais longa do que larga; postoculares: a superior é preta com mancha amarela-escura na parte anterior, a postocular inferior apresenta forma retangular, de cor amarela-escura com bordo posterior pontiagudo; frontal: tão longa quanto sua distância à extremidade do focinho, bordo anterior retilíneo e ponteagudo, bordos laterais retos ,o bordo posterior é pontiagudo em a extremidade entre as duas parietais; parietais, menores do que a distâncias até a ponta do focinho; sinfisial: de cor amarela e com forma de triângulo equilátero; mentuais anteriores de forma retangular e pontiagudas nos bordos internos posteriores e de cor amarela;

* Escola Superior de Agricultura de Mossoró — Mossoró — Rio Grande do Norte — Brasil. Trabalho elaborado durante o estágio na Seção de Herpetologia, por ocasião do preparo da tese de doutoramento na Fisiologia USP.



HOGE, A. R. e LIMA-VERDE, J. S. — *Liophis mossoroensis* nov. sp. do Brasil. (Serpentes colubridae). *Mem. Inst. Butantan*, 36: 215-220, 1972.

Liophis mossoroensis sp. n.

Nº COLEÇÃO	PROCEDÊNCIA	DATA	SEXO	DORSAIS	VENTRAIS	ANAL	SUBCAUD	SUPRALAB	INFRALAB	COMPRIMENTOS CABEÇA	CORPO	CAUDA
IBH 32078	Mossoró, RN, ESAM	20/5/70	♂	17-17-15	159	1/1	47/47	8/8	10/10	21,3 mm	486 mm	99 mm
IBH 32079	Mossoró, RN, ESAM	24/6/70	♀	17-17-15	158	1/1	51/51	8/8	10/10	19,8 mm	442 mm	92 mm
IBH 32080	Mossoró, RN, ESAM	19/5/70	♂	17-17-15	156	1/1	49/49	8/8	10/10	10,8 mm	158 mm	32 mm
IBH 20022	Messejana Fortaleza — CE	dez/60	♀	17-17-15	141	1/1	51/51	8/8	10/10	28,3 mm	617 mm	144 mm
IBH 16241	Fortaleza — CE	s/data	♀	17-17-15	162	1/1	49/49	8/8	10/10	28,4 mm	694 mm	140 mm
LV — 64	Mossoró, RN, ESAM	set/70	♀	17-17-15	161	1/1	51/51	8/8	10/10	14,2 mm	262 mm	57 mm
LV — 101	Mossoró, RN Rio Mossoró	5/5/70	♂	17-17-15	155	1/1	45/45	8/8	10/10	19,1 mm	395 mm	81 mm
LV — 9	Limoeiro do Norte — CE	abril/ maio/68	♂	17-17-15	162	1/1	49/49	8/8	10/10	26,5 mm	617 mm	120 mm
LV — 4	Limoeiro do Norte — CE	24/4/68	♀	17-17-15	160	1/1	49/49	mutilada	mutilada	20,4 mm	403 mm	82 mm
LV — 39	Limoeiro do Norte — CE	abril/ maio/68	♂	17-17-15	162	1/1	45/45	8/8	10/10	21,4 mm	461 mm	93 mm

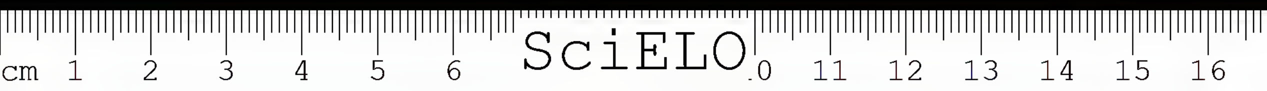
as posteriores de formas paralelográmicas com o bordo interno formando a base menor; supralabiais: em número de 8, a 4.ª e a 5.ª entrando na órbita; infralabiais, 10/10; dorsais 17/17/15; ventrais: 159; anal dividida: subcaudais 47/47; coloração, o dorso é preto com manchas amarelas na cabeça; as 1.ª e 2.ª fileiras de escamas dorsais são amarelas e a 3.ª fileira das mesmas, apresenta manchas amarelas no centro; a superfície ventral do corpo é amarela com algumas linhas escuras nos bordos; comprimentos: da cabeça 21,3 mm; corpo 486,0 mm; cauda 99,0 mm.

AFINIDADES

Liophis mossoroensis é afim de *Liophis purpurans* do qual se distingue pelo desenho da cabeça (fig. 1), subcaudais 49/51 nas fêmeas e 45/49 nos machos, ao invés de 57 a 62 e 53 a 61 em *purpurans* (graf. I).

ABSTRACT — Description of the new species *Liophis mossoroensis* closely allied to *Liophis purpurans*.

UNITERMS — *Liophis mossoroensis* sp. n. closely allied to *Liophis purpurans*.

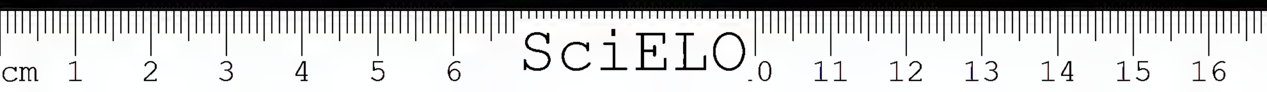


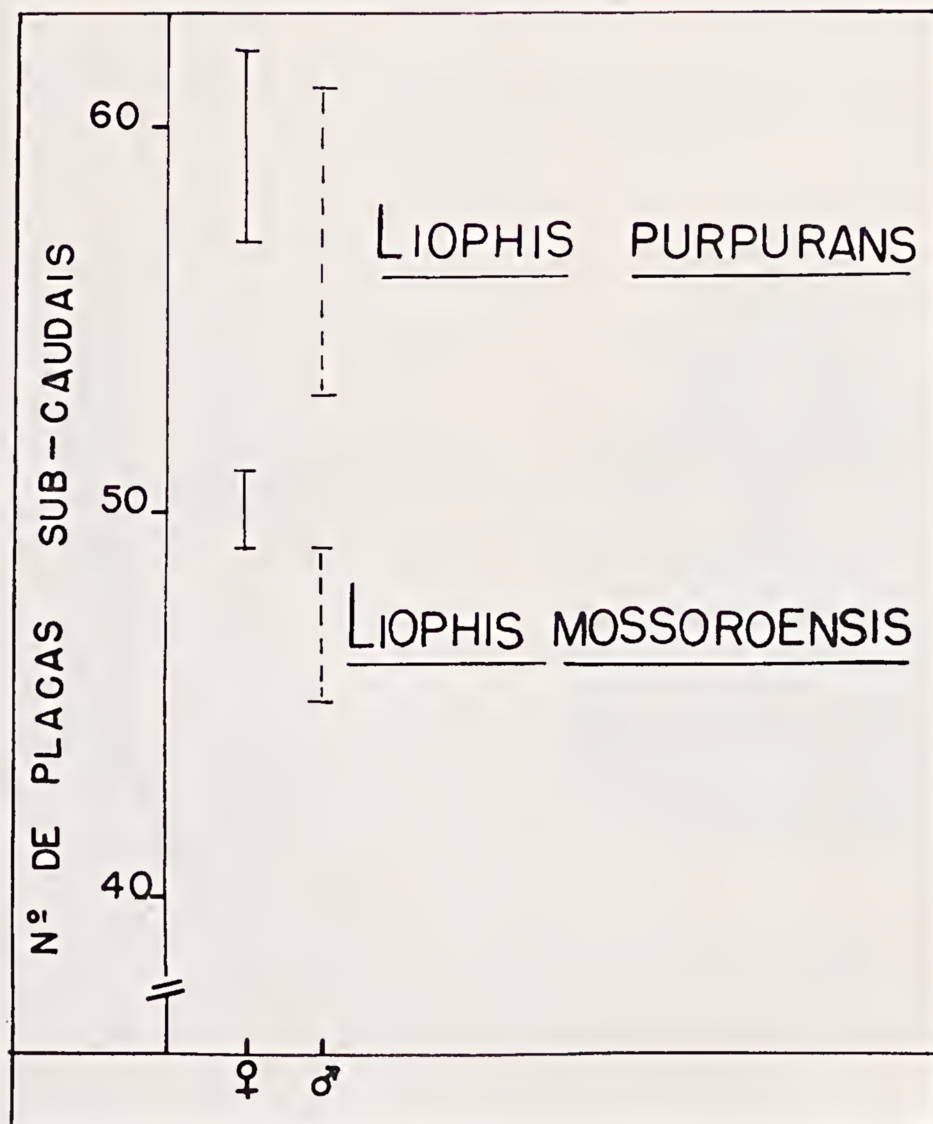
BIBLIOGRAFIA

COPE, E. D. — An Examination of the Reptilia and Batrachia obtained by the Orton Expedition to Equador and the Upper Amazon, with notes on other Species. *Proc. Acad. Nat. Sci. Philadelphia*, **20**, 96-140, 1868.

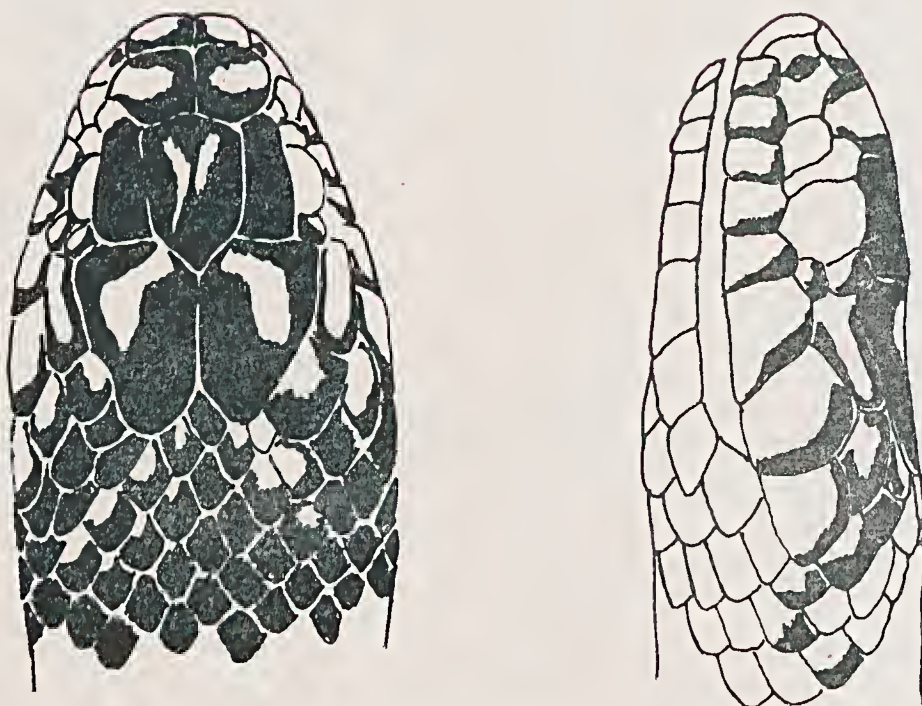
REUSS, A. — Zoologische Miscellanien Reptilia, Ophidier *Senck. Mus,* 1: 129-162, tafel VIII fig 1 *a* und *b,* 1834

BOULENGER, G. A. — *Catalogue of the Snakes in the British Museum (Natural History). Volume* **II**. Longmans & Co., B. Quaritch, Dulau & Co. Kegan Paul & Co., XI + 382, 25 figs., XX pls., London.: 127-143, 1894





1 — Gráfico da variação do número de subcaudais em *L. mossoroensis* e *L. purpurans.*



2 — *Liophis mossoroensis.*

Mem. Inst. Butantan
36: 221-232, 1972.

SERPENTES COLETADAS PELO PROJETO RONDON VII EM IAUARETÉ, BRASIL

ALPHONSE RICHARD HOGE, NEWTON PEREIRA SANTOS, CARMEN HEITOR, LÍDIO ANIBAL LOPES E IRENE MENEZES DE SOUZA.

(Seção de Herpetologia, Instituto Butantan)

RESUMO — Foram identificados os espécimes coletados na região de Iauareté, entre os quais se destacam tres espécies novas para o território brasileiro: *Chironius holochlorus* (Cope), *Micrurus filiformis subtilis* Roze, *Micrurus spixii obscurus* (Jan). *Oxyrhopus occipitalis* (Wagler) foi revalidada.

UNITERMOS — Serpentes coletadas em Iauareté-Amazonas, Brasil. Identificação das espécies.

Durante o mes de Janeiro de 1971, a equipe do PR VII coletou várias espécies de serpentes, entre as quais se destacam tres que são novas para o território brasileiro.

O material é proveniente da região de Iauareté, Município de Uaupés. Localidade situada na Amazônia Ocidental, região do Alto Rio Negro. Apresenta clima equatorial úmido, temperatura média de 24.°C com mínimas e máximas anuais de 19° C e 30° C. Com uma média de 2.500 mm de precipitação anual. A vegetação é a característica deste clima, exuberante com grande variedade de espécies: a características floresta de terra firme do Alto Amazonas. Às margens do Rio Uaupés, na região de Iauareté, encontram-se matas secundárias.

Atractus torquatus (Duméril, Bibron et Duméril)

1854 *Rabdosoma torquatum* Duméril, Bibron et Duméril, Erp. Gén., *7:* 101

1862 *R. [abdosoma] varium* Jan, Arch. Zool. Anat. Fis., *2:* 18

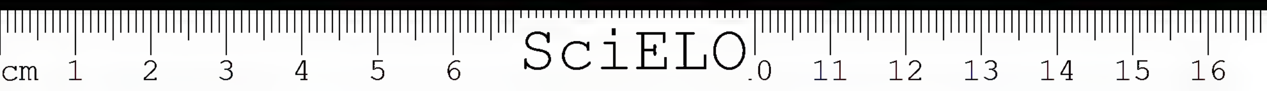
1894 *Atractus torquatus;* Boulenger, Cat. Sn. Brit. Mus., *2:* 309.

Localidade tipo: Santa Cruz de La Sierra, Dept° de Santa Cruz, Bolívia.

Material: Um exemplar; fêmea; procedente de Iauareté, AM, Brasil.

IBH n.° 31999 — jan/fev/71 — Dorsais 17/17/17; ventrais 156, anal 1; subcaudais 35/35; supralabiais 8/8; infralabiais 8/8; comprimentos: da cabeça 10mm; do corpo 260mm; cauda 35mm.

Colorido do corpo característico da espécie.



Chironius fuscus (Linnaeus)

1758 *Coluber fuscus* Linnaeus, Syst. Nat. Ed. 10.ª: 222.

1930 *Chironius fuscus;* Amaral, Mem. Inst. Butantan, (1929) *4:* 161.

Localidade tipo: ÁSIA (in error).

Material: Um exemplar, fêmea, procedente da região entre Santa Maria e Maloca Macu, AM, Brasil.

IBH n.º 31987 — jan/fev/71 — Dorsais 12/10/10; ventrais 143, anal 1; subcaudais 136/136; supralabiais 9/9; infralabiais 11/10; comprimentos: da cabeça 13,9mm; do corpo 245mm; cauda 145mm.

Dorso verde-cinza com faixas oblíquas claras anguladas de preto. Cabeça escura. Ventre mais claro; supralabiais brancas. Todas as escamas dorsais lisas.

Chironius holochlorus (Cope)

1876 *Herpetodryas holochlorus* Cope, Jour. Acad. Nat. Sci. Philadelphia, 1875: 178

1969 *Chironius holochlorus;* Donoso-Barros, Bol. Soc. Biol. Concepcion 41; 190.

Localidade tipo: Rio Marañón, Peru.

Material: 2 exemplares, procedentes de Iauaraté, AM, Brasil.

IBH n.º 31963 — Jan/fev./71 — fêmea. Dorsais 12/10/10, todas lisas; ventrais 159; anal 1; subcaudais 116/116; supralabiais 9/9; infralabiais 11/10; comprimentos: da cabeça 23,4mm do corpo 465mm, cauda 225mm.

IBH n.º 31964 — jan/fev/71 — macho. Dorsais 12/10/8, sem fossetas apicais; ventrais 152; anal 1; subcaudais 111/111; supralabiais 9/9; infralabiais 10/10 comprimentos: da cabeça 19,7mm; do corpo 355mm; cauda 165mm.

Colorido uniformemente verde.

Esta espécie revalidada por Donoso-Barros é mencionada pela primeira vez no território brasileiro; distingue-se facilmente de *Chironius fuscus,* pelo colorido uniforme.

Erythrolamprus aesculapii subsp.

IBHn.º 31985 — Jan/fev/71 — macho, procedente de Javareté, Colômbia.

Rostral mais larga que alta, visível de cima; internasais mais curtas que as prefrontais; frontal aproximadamente uma e meia vez mais alta que larga, mais longa que sua distância da ponta do focinho, mais curta que as parietais;

loreal tão larga quanto alta; 1 preocular, não em contato com a frontal; 2 postoculares, sendo a inferior em contato com a 4.ª e 5.ª supralabiais; temporais 1 + 2; 7-7 supralabiais (3.ª e 4.ª em contato com o olho); 9-9 infralabiais, sendo as 4 primeiras em contato com as mentuais anteriores, que são ligeiramente mais longas que as posteriores. Dorsais 15/15/15. Ventrais 187. Anal 1/1. Subcaudais 37/37. Comprimento dos anéis pretos (escamas dorsais), faixa branca que os separa e os espaços vermelhos, no meio do corpo: 2 — 2½ — 2½ — 12½ — 2 — 2½ — 2. Quinze anéis no corpo e 4 na cauda; escamas orladas de preto; uma faixa preta na cabeça, passando através dos olhos; na região nucal 2.ª a 4.ª fileiras de escamas dorsais orládas de preto, delimitando uma mancha nucal imprecisa.

Comprimentos: da cabeça 18,8mm; do corpo 590mm; cauda 80mm.

IBH n.º 31968 — jan/fev/71, macho, procedente de Iauareté, AM, Brasil. Dorsais 15/15/15; ventrais 182; anal 1/1; subcaudais 41/41; supralabiais 7/7; infralabiais 9/9; comprimentos: da cabeça 9,0mm; do corpo 573mm; cauda 85mm.

Helicops hagmanni Roux

1910 *Helicops hagmanni* Roux, Zool. Anz., *36*: 439.

Localidade tipo: Santarém, AM, Brasil.

Material: Um exemplar, macho, procedente de Iauareté, AM, Brasil.

IBH n.º 31967 — Jan/fev./71 — Dorsais 23/23/19; ventrais 123; anal 1/1; subcaudais 57/57; supralabiais 8/8; infralabiais 10/11; comprimentos: da cabeça 14,6mm; do corpo 245mm; cauda 86mm.

O exemplar mostra duas fileiras de manchas escuras no ventre; interconectadas com manchas brancas, estendendo-se até a 4.ª fileira dorsal. Dorso escuro com 2 fileiras de manchas negras (as manchas ocupam 4 escamas). Dorsais carenadas. Cabeça na mesma cor do dorso.

O exemplar mostra colorido bastante mais vivo, do que os outros exemplares por nós examinados, mas tratando-se de um juvenil, devemos aguardar mais material na região para poder avaliar uma possível variação no colorido.

Hydrodynastes bicinctus bicinctus (Hermann)

1804 *Coluber bicinctus* Hermann, Observaciones Zoologicae: 276.

1958 *Hydrodynastes bicinctus;* Hoge, Pap. Avul. Dept.º Zool. São Paulo, *13*: 222.

1966 *Hydrodynastes bicinctus bicinctus;* Hoge, Ciência e Cultura, São Paulo, *18*: 143.

Localidade tipo: não indicada.

Material: 14 exemplares.

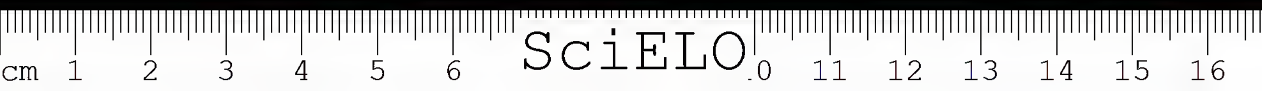


TABELA I

Hydrodynastes bicinctus bicinctus (Herrmann)

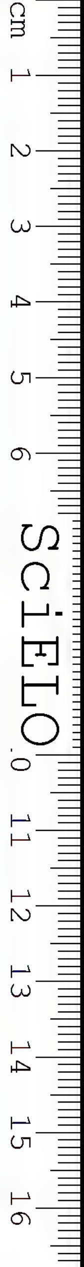
Nº COLEÇÃO	PROCEDÊNCIA	DATA	SEXO	DORSAIS	VENTRAIS	ANAL	SUBCAUD	SUPRALAB	INFRALAB	COMPRIMENTOS CABEÇA	CORPO	CAUDA
IBH 31974	Iauareté-AM-BR	jan/fev/71	♂	19/19/15	169	1	87/87	8/8	10/10	30,6mm	740mm	300mm
IBH 31976	Javareté COLOMBIA	jan/fev/71	♀	19/19/15	174	1	77/77	8/8	10/10	20,2mm	335mm	103mm
IBH 31980	Iauareté-AM-BR	jan/fev/71	♂	21/19/15	170	1	84/84	8/8	10/10	18,5mm	290mm	107mm
IBH 31982	Iauareté-AM-BR	jan/fev/71	♂	20/19/15	168	1	86/86	8/8	10/10	18,7mm	292mm	107mm
IBH 31984	Iauareté-AM-BR	jan/fev/71	♀	20/19/15	177	1	77/77	8/8	10/10	19,9mm	320mm	103mm
IBH 31986	Iauareté-AM-BR	jan/fev/71	♀	19/19/15	173	1	75/75	8/9	11/10	19,4mm	295mm	95mm
IBH 31988	Iauareté-AM-BR	jan/fev/71	♂	21/19/15	169	1	88/88	8/8	10/10	19,2mm	285mm	111mm
IBH 31990	Iauareté-AM-BR	jan/fev/71	♀	19/19/15	173	1	77/77	8/8	11/10	19,0mm	295mm	95mm
IBH 31994	Iauareté-AM-BR	jan/fev/71	♂	21/19/15	169	1	88/88	8/8	10/10	18,7mm	295mm	110mm
IBH 31997	Iauareté-AM-BR	jan/fev/71	♂	21/19/15	168	1	85/85	8/8	11/10	19,6mm	290mm	109mm
IBH 32001	Santa Maria-AM BRASIL	jan/fev/71	♀	19/19/15	174	1	79/79	9/8	11/10	19,9mm	325mm	108mm
IBH 32002	Santa Maria-AM BRASIL	jan/fev/71	♀	20/19/15	174	1	77/77	8/8	10/10	28,4mm	685mm	232mm
IBH 32003	Iauareté-AM-BR	jan/fev/71	♂	20/19/15	169	1	86/86	8/8	11/10	20,7mm	323mm	120mm
IBH 32012	Iauareté-AM-BR	jan/fev/71	♀	19/19/15	173	1	73/73	8/8	10/10	51,2mm	1560mm	515mm

Estes exemplares apresentam o colorido típico da subspécie.

TABELA II

Leptodeira annulata annulata (Linnaeus)

										COMPRIMENTOS		
Nº COLEÇÃO	PROCEDÊNCIA	DATA	SEXO	DORSAIS	VENTRAIS	ANAL	SUBCAUD	SUPRALAB	INFRALAB	CABEÇA	CORPO	CAUDA
IBH 31991	Iauareté-AM-BR	jan/fev/71	♂	21/21/15	184	1/1	88/88	8/8	11/11	17,6mm	472mm	166mm
IBH 31977	Iauareté-AM-BR	jan/fev/71	♂	19/19/15	187	1/1	83/83	8/8	10/11	16,5mm	432mm	158mm
IBH 31995	Santa Maria-AM Brasil	jan/fev/71	♀	21/19/15	187	1/1	82/82	8/8	10/10	19,5mm	488mm	156mm
IBH 31983	Juquira-AM-BR	jan/fev/71	♀	21/19/15	183	1/1	83/83	8/8	11/11	19,8mm	480mm	159mm



Leptodeira annulata annulata (Linnaeus)

1758 *Coluber annulatus* Linnaeus, Sys, Nat., Ed. 10.ª: 224.

1929 *Leptodeira annulata annulata;* Amaral, Mem. Inst. Butantan, 4:78.

1958 *Leptodeira annulata annulata;* Duellman; Bull. Amer. Mus. Nat. Hist., 114:51

Localidade tipo: Bacia Amazônica, restrita por Duellman, Bull. Amer. Mus. Nat. Hist., 114, 1958, para: baixo Rio Amazonas, Pará, Brasil.

Material: 4 exemplares.

Leptophis ahaetulla copei Oliver

1942 *Leptophis ahaetulla copei Oliver,* Occ. Pap. Mus. Zool. Univ. Mich., *462: 7.*

1948 *Thalerophis richardi* copei Oliver, Bull. Amer. Mus. Nat. Hist., *92*: 230.

1958 *Leptophis ahaetulla* copei Oliver, Inst. Comm. Zool. Nomen., Op. *524*: *270.*

Localidade tipo: Salto do Huá, Brasil.

Material: Um exemplar, macho, procedente de Iauareté. AM, Brasil.

IBH n.º 32010 — jan/fev/71 — Dorsais 15/15/11; ventrais 166, anal 1/1; subcaudais 174/174; supralabiais 9/9; infralabiais 11/11; Comprimentos: da cabeça 20,1mm; do corpo 647mm; cauda 442mm.

Dorso azulado com tom mais escuro da 4.ª à 9.ª fileira, cobrindo a cabeça. ventrais no mesmo tom que a 1.ª e 2.ª fileiras dorsais. Dorsais carenadas.

Hemipênis alcançando a 6.ª subcaudal; espinhos basais presentes. 0 séries de espinhos à altura da 3.ª subcaudal, que decrescem em tamanho para trás; cálices na porção distal. Olho de diâmetro igual à sua distância entre o seu bordo anterior e a narina; uma preocular não em contato com a frontal; loreal ausente; 2 postoculares, sendo a inferior muito menor do que a superior; supralabiais (5.ª e 6.ª); temporais 1 + 2; parietal não em contato com postocular inferior; escamas carenadas de 6.ª até a 10.ª fileira dorsal; nenhuma escama carenada à altura do ânus; postocular inferior inteiramente ocupada por uma faixa que termina na última supralabial; na parte anterior à órbita, a faixa é apenas esboçada na parte superior da 1.ª até a 4.ª supralabial (não há faixa vertebral clara).

Os caracteres cromáticos e hemipenianos do exemplar são os de *copei,* porém, o número de ventrais, 166, é inferior ao mencionado para a espécie e entra na variação conhecida para *ortoni* (152-158), média 161,54. Quanto ao número de subcaudais é ligeiramente inferior ao número conhecido para *copei,* porém, superior à variação conhecida para *ortoni* (144-151), média de subcaudais para *copei* 168 nos machos; variação (176-179).

Oxybelis fulgidus (Daudin)

1803 *Coluber fulgidus* Daudin, Hist. Nat. Rept., *6*: 352, pr. 80

1853 *O.* [*xybelis*] *fulgidus* — Duméril, Mém. Acad. Sci. Paris, 23: 487.

Localidade tipo: Perto de Port-au-Prince, Santo Domingo (provavelmente errado). Localidade tipo sugerida: Surinam, Guiana Holandesa (Schmidt, 1941). Localidade tipo restrita: Chichen-Itzá, Yucatán, México

Material: 2 exemplares.

Um exemplar; IBH n.º 32009 — jan/fev/71, fêmea; procedente de Iauareté, AM, Brasil. Dorsais 20/17/13; ventrais 214; anal 1/1; subcaudais 150/150 (cm); supralabiais 10/10; infralabiais 11/11; comprimentos: da cabeça 46,8mm; do corpo 1285mm; cauda 602 (cm).

Colorido do corpo uniformemente verde, ventre mais claro, com duas estrias laterais brancas.

Um exemplar IBH n.º 31979 — jan/fev/71, macho; procedente de Santa Maria, AM, Brasil. Dorsais 17/17/13; ventrais 207; anal 1/1; subcaudais .... 160/160; supralabiais 10/10; infralabiais 10/10; comprimentos; da cabeça 19,8mm; do corpo 335; cauda 162mm.

Colorido igual ao IBH n.º 32009.

Oxyrhopus petola digitalis (Reuss)

1834 *Coluber digitalis* Reuss, Mitglad. Senckenb Naturforsch. Ges., 1:148, pr. 9, fig. 1.

1970 *Oxyrhopus petola digitalis;* Bailey in Peters & Orejas Miranda, Bul. U.S.N. Mus. 297, Washington: 233.

Localidade tipo: Ilhéus, Brasil.

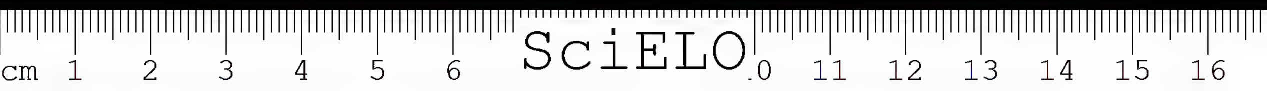
Material: Um exemplar macho; procedente de Iauareté, AM, Brasil.

IBH n.º 31969 — jan/fev/71; Dorsais 21/19/17; ventrais 208; anal 1; subcaudais 118/118; supralabiais 8/8; infralabiais 10/10; comprimentos; da cabeça 15,8mm; do corpo 439mm; cauda 153mm.

Oxyrhopus occipitalis (Wagler)

1824 *Natrix occipitalis* Wagler, in Spix., Sp. Nov. Serp. Bras.: 21, pr. 6, fig. 2.

Bailey in Peters et Orejas Miranda: 232, considera *labialis* como sinônimo de *formosus*, admitindo no entanto, que este agrupamento é um com-



plexo de formas e que é necessário mais material para se chegar a uma conclusão mais certa. A observação de Bailey, que os exemplares da Bacia Amazônica e Colômbia perdem as faixas pretas quando adultos, é procedente, todavia, nenhum dos exemplares da região amazônica por nós examinados, apresenta esboço de faixas transversais, nem os jovens, apresentando sempre o aspecto do focinho claro [não a cabeça inteira como *formosus*, seguido por uma região escura, alcançando a região nucal. Revalidamos aqui *Oxyrhopus occipitalis* (Wagler)].

Oxyrhopus occipitalis Wagler, distingue-se de *Oxyrhopus formosus* Wied por ter o corpo uniformemente avermelhado; as escamas com as pontas escuras com tendência a formar uma orla preta; cabeça e nuca escura; ponta do focinho clara aproximadamente até a altura da frontal.

Material: Dois exemplares, fêmeas, procedentes de Iauareté, AM, Brasil.

IBR n.º 31989 — jan/fev/71 — Dorsais 19/19/17; ventrais 197; anal 1; subcaudais 72/72; supralabiais 8/8; infralabiais 9/9; comprimentos: da cabeça 24,9mm; do corpo 810mm; cauda 186mm.

IBH n.º 31989 — jan/fev/71 — Dorsais 19/19/17; ventrais 197; anal 1; Subcaudais 75/75; supralabiais 8/8; infralabiais 10/9; comprimentos: da cabeça 20mm; do corpo 647mm; cauda 154mm.

Oxyrhopus trigeminus (Duméril, Bibron and Duméril)

grupo *melanogenys*

1854 *Oxyrhopus trigeminus* Duméril, Bibron and Duméril, Erp Gén., 7:1013

1913 *Oxyrhopus trigeminus;* Thompson, Proc. Acad. Nat. Sci. Phila., 79.

Localidade tipo: Bahia e Rio de Janeiro, Brasil; restrita para Distrito Federal, atualmente Estado da Guanabara, por Vanzolini, Rev. Brasil. Biol. 8: 382, restrição rejeitada por Bailey (por razões a serem publicadas, posteriormente).

Material: Um exemplar fêmea, procedente de Iauareté, AM, Brasil.

IBH n.º 31970 — jan/fev/71 — Dorsais 21/19/17; ventrais 203; anal simples; subcaudais 83/83; supralabiais 8/8; infralabiais 10/10; comprimentos: da cabeça 13mm; do corpo 367mm; cauda 96mm.

O exemplar difere bastante dos exemplares do resto do Brasil. A espécie necessita de revisão pois há várias subspécies; aguardamos a revisão de Bailey.

Pseudoboa coronata Schneider

1801 *Pseudoboa coronata* Schneider, Hist. Amphib., 2: 886.

Localidade tipo: América.

Material: Dois exemplares procedentes de Iauareté, AM, Brasil.

IBH n.º 31981 – jan/fev./71; macho; dorsais 17/17/17; ventrais 199; anal 1; subcaudais 85; supraláabiais 7/7; infralabiais 8/8 comprimentos; da cabeça 22,7mm; do corpo 730mm; cauda 234mm.

IBH n.º 31993 – jan/fev/71; fêmea; dorsais 17/17/17; ventrais 195; anal 1; subcaudais 83 (cm); supralabiais 7/7; infralabiais 8/8; comprimentos: da cabeça 25,5mm; do corpo 770mm; cauda 253mm (cm).

Colorido do corpo dos exemplares: dorso salmão com faixa longitudinal preta, que se inicia na nuca e vai da 4.ª fileira até a 15.ª, tornando-se menos larga à medida que se aproxima da cauda. Cabeça com a parte anterior do focinho escura até a frontal. Ventre imaculado.

Spilotes pullatus pullatus (Linnaeus)

1758 *Coluber pullatus* Linnaeus, Syst. Nat., Ed. 10.ª:225.

1830 *Spilotes pullat.* [*us*]; Wagler, Nat. Syst. Amph.: 179.

1929 *Spilotes pullatus pullatus;* Amaral, Mem. Inst. Butantan, *4*: 277, fig. 1.

1962 *Spilotes pullatus pullatus* Hoge e A.C.M. Nina, Mem. Inst. Butantan, *30*: 77.

Localidade tipo: ÁSIA (in error).

Material: Um exemplar fêmea, procedente de Iauareté, AM, Brasil.

IBH n.º 31965 – jan/fev/71; dorsais 14/16/11; ventrais 231; anal 1; sub caudais 109/109; supralabiais 6/6; infralabiais 8/8; comprimentos: da cabeça 20,9mm; do corpo 440mm; cauda 128mm.

O exemplar, mostra dorso preto, com faixas amarelas dirigidas obliquamente para a frente do corpo, em direção ao ventre, formando anéis largos posteriormente, até o fim da cauda. Ventre amarelado, com manchas transversais negras. Cabeça amarela com manchas negras.

Xenodon severus (Linnaeus)

1758 *Coluber severus* Linnaeus, Syst. Nat., Ed. 10.ª: 219.

1826 *X.* [*enodon*] *severus;* Fitzinger, Neue Classification der Reptillien: 57.

Localidade tipo: "ÁSIA", restrito à América do Sul (Günther, 1863:353).

Material: 5 exemplares procedentes de Iauareté, AM, Brasil.

Ventre amarelado. Dorso acinzentado escuro com a maioria das escamas orladas de preto e grandes manchas escuras através do corpo, mais acentuadas na região próxima a cabeça; cabeça acinzentada.

HOGE, A. R., SANTOS, N. P., HEITOR, C., LOPES, L. A. e SOUZA, I. M. — Serpentes coletadas pelo Projeto Rondon VII, em Iauaretê, Brasil. *Mem. Inst. Butantan*, *36* : 221-232, 1972.

TABELA III

Xenodon severus (Linnaeus)

Nº COLEÇÃO	PROCEDÊNCIA	DATA	SEXO	DORSAIS	VENTRAIS	ANAL	SUBCAUD	SUPRALAB	INFRALAB	COMPRIMENTO CABEÇA	CORPO	CAUDA
IBH 31992	Iauaretê-AM-BR	jan/fev/71	♂	21/21/17	135	1/1	40/40	8/8	12/12	55,5mm	1022mm	161mm
IBH 32000	Iauaretê-AM-BR	jan/fev/71	♀	21/21/17	136	1/1	35/35	8/8	11/11	s/crânio	1020mm	150mm
IBH 31996	Iauaretê-AM-BR	jan/fev/71	♀	21/21/17	135	1/1	38/38	8/8	11/11	68,9mm	1192mm	190mm
IBH 32011	Iauaretê-AM-BR	jan/fev/71	♀	21/21/17	139	1/1	37/37(cm)	8/8	11/11	63,5mm	1127mm	160mm (cm)
IBH 31973	Iauaretê-AM-BR	jan/fev/71	♀	21/21/17	139	1/1	34/34	8/8	11/11	45,5mm	680mm	90mm

TABELA IV

Bothrops atrox (Linnaeus)

Nº COLEÇÃO	PROCEDÊNCIA	DATA	SEXO	DORSAIS	VENTRAIS	ANAL	SUBCAUD	SUPRALAB	INFRALAB	COMPRIMENTO CABEÇA	CORPO	CAUDA
IBH 31966	Iauaretê-AM-BR	jan/fev/71	♀	? /25/21	189	1	59/59	7/7	9/10	16,7mm	236mm	38mm
IBH 31978	Araripirá-AM-BR	jan/fev/71	♀	29/25/21	193	1	61/61	7/7	9/10	36,2mm	775mm	122mm
IBH 31962	Uirauassu-AM-BR	jan/fev/71	♀	28/25/19	188	1	59/59	7/7	10/9	57,2mm	1160mm	174mm
IBH 32007	Iauaretê-AM-BR	jan/fev/71	—	Obs: Está viva no laboratório da Seção de Herpetologia.								

Colorido e desenho típicos dos exemplares, mostrando as manchas trapezoidais laterais pouco distintas; manchado de amarelo e preto; supralabiais fortemente polvilhadas de marrom-cinza escuro.

Bothrops atrox (Linnaeus)

1758 *Coluber atrox* Linnaeus, Sys. Nat., Ed. 10.ª: 222.

1966 *Bothrops atrox;* Hoge. Mem. Inst. Butantan, 32:113; pr. V; figs. 1, la, e 1b.

Localidade tipo: ÁSIA (in error,) corrigido e restrito [Hoge, 1966 (1965)], para Surinam.

Material: 4 exemplares.

Bothrops brazili Hoge

1953 *Bothrops brazili* Hoge, Mem. Inst. Butantan, 25: 15, figs. 1-6 e 7b.

Localidade tipo: Tomé Assú, Rio Acará-Mirim, Estado do Pará, Brasil.

Material: Um exemplar, fêmea, procedente de Javareté, Colômbia.

IBH n.º 31972 — jan/fev/71; dorsais 28/25/19; ventrais 157 (+1); anal 1; subcaudais 43/43; supralabiais 8/8; infralabiais 12/11; comprimentos: da cabeça 41,6mm; do corpo 660mm; cauda 84mm.

Colorido e desenho do exemplar de cor de fundo castanho-acinzentado; manchas laterais trapezoidais, escuras marginadas lateralmente de marrom escuro, algumas confluentes com as do lado oposto; ventre branco com manchas arredondadas escuras, na parte lateral das ventrais e paraventrais. Faixa postocular ausente.

Micrurus filiformis subtilis Roze

1967 *Micrurus filiformis subtilis* Roze, Amer. Mus. Novitates, 2287: 22, fig. 8.

Localidade tipo: Caruru, Rio Uaupés, fronteira Brasil-Colômbia.

Material: Um exemplar, macho, procedente de Iauareté, AM., Brasil.

IBH n.º 32005 — Jan/fev/71; dorsais 15/15/15, ventrais 271; anal 1/1; subcaudais 35/35; supralabiais 7/7; infralabiais 7/7; comprimentos: da cabeça 10,1mm; do corpo 502mm; cauda 38mm; tríadas no corpo: 16; na cauda 12/3.

O exemplar apresenta focinho preto, uma faixa branca cobrindo as pre-frontais e estendendo-se da 2.ª até parte da 4.ª e 5.ª supralabiais; uma faixa preta cobrindo a frontal, parte anterior das parietais e a temporal anterior alongando-se até a 4.ª e 5.ª supralabiais. Parte anterior da cabeça vermelha, ocupando 2 1/2 escamas da fileira dorsal.

16 tríadas no corpo e 1 2/3 na cauda; a tríada preta central mostra-se mais larga que as externas. O comprimento da tríada no meio do corpo e da vermelha adjacente é 3 — 1 — 4 — 1 — 3 — 6 1/2. As bandas vermelhas têm os ápices angulados de preto.

Trata-se do primeiro exemplar coletado em território brasileiro.

Micrurus spixii obscurus (Jan)

1872 *Elaps corallinus var. obscura Jan, in* Jan and Sordelli, Icon. Gén. Ophid. Livr. 41: pr. 6, fig. 3.

1943 *Micrurus spixii obscura;* Schmidt and Walker; Zool. Ser. Field. Mus. Nat. Hist., *24*: 294.

1953 *Micrurus spixii obscurus;* Schmidt, Fieldiana Zool., *34*:175.

Localidade tipo: Lima, corrigida (Schmidt et Walker 1943), para Peru Oriental e posteriormente designada (Schmidt l.c.) para Iquitos.

Material: Um exemplar, fêmea; procedente de Dom Bosco, AM, Brasil.

IBH n.º 32004 — jan/fev/71; dorsais 15/15/15; ventrais 207; anal 1/1; subcaudais 3/3; 7, 9/9; supralabiais 7/7; infralabiais 7/7; comprimentos; da cabeça 25,8mm; do corpo 905mm; cauda 50mm.

O exemplar mostra colorido vermelho na cabeça, onde as placas são anguladas e manchadas de preto. Primeiras escamas dorsais laterais amarelas. 16 anéis pretos sempre mais estreitos que os interespaços, que se sucedem amarelos e vermelhos; primeiro anel preto com uma prolongação angular chegando à nuca. As faixas vermelhas e amarelas anguladas de preto.

Trata-se do primeiro espécime coletado no Brasil.

Micrurus surinamensis nattereri Schmidt

1952 *Micrurus surinamensis nattereri Schmidt,* Fieldiana, Zool., 34: 27.

1962 *Micrurus surinamensis nattereri;* Hoge et Lancini, Publ. Ocas. Mus. Ciên. Nat. (Zool.). Caracas, Venezuela, *1*: 12.

Localidade tipo: Guaramoco e San Fernando, Venezuela, corrigida por Hoge et Lancini (l.c.), para, entre: Guaramaco e San Fernando de Atabapo, Venezuela.

Material: Um exemplar, macho; procedente de Dom Bosco, AM, Brasil.

IBH n.º 32006 — jan/fev/71; dorsais 15/15/15; ventrais 180; anal 1/1; subcaudais 39/39; supralabiais 7/7; infralabiais 7/7; comprimentos: da cabeça 10,4mm; do corpo 215mm; cauda 27mm.

Exemplar com a cabeça vermelha, escamas escassamente marginadas de preto. 6 2/3, tríadas no corpo e 1 1/3 na cauda. Anel preto central da tíada maior que os anéis externos. O comprimento da tríada no meio do corpo e interespaço adjacente vermelho é 3 1/2 — 1 1/2 — 7 1/2 — 1 1/2 — 7 1/2.

ABSTRACT — Specimens colected at Iauaretê are identified. Twenty species are recorded from wich three, *Chironius holochlorus* (Cope), *Micrurus filiformis subtilis* Roze, and *Micrurus spixii obscurus* (Jan), are new for Brazil. *Oxyrhpus occipitalis* (Wagler) is revalided.

UNITERMS — Snakes colected at Iauaretê, Amazonas, Brazil. Identification of species.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Projeto Rondon pelas facilidades oferecidas.

Recebido para publicação em 30/6/72
Aceito para publicação em outubro/72

Mem. Inst. Butantan
36: 233-241, 1972.

REDESCRIÇÃO DE *Dryptopelmides* STRAND 1907 (*ARANAE, ORTHOGNATHA, THERAPHOSIDAE, ISCHNOCOLINAE*) E DESCRIÇÃO DE *Dryptopelmides rondoni* sp. n.

SYLVIA LUCAS (*) e WOLFGANG BÜCHERL (**)

(Secção de Artrópodos Peçonhentos, Instituto Butantan)

RESUMO — Strand em 1907 descreveu *Dryptopelmides* e *D. ludwigi*, g. n., sp. n.. Não pôde dar uma descrição detalhada, pois o único exemplar, uma fêmea, estava em mau estado de conservação. Também não considerou o aspecto dos receptáculos seminais.

Dispondo de um macho e de uma fêmea de Iauaretê, Amazonas, pertencentes a esse gênero, damos uma descrição mais completa do mesmo e estabelecemos uma espécie nova, *Dryptopelmides rondoni*, que se distingue de *ludwigi* pelo colorido, pela dentição das quelíceras, pelo comprimento dos artículos das fiandeiras superiores e pela espinulação das pernas.

UNITERMOS — Redescrição de *Dryptopelmides: D. rondoni* —; Sistemática.

INTRODUÇÃO

Strand em 1907 descreveu *Dryptopelmides ludwigi* g. n., sp. n., baseado numa fêmea de Puerto Cabelo, Venezuela. O mau estado de conservação do exemplar, com lábio e coxas I parcialmente danificados, não lhe permitiu dar uma diagnose detalhada do gênero e o autor também não mencionou os receptáculos seminais, caracter de tão grande valor na sistemática.

Recebemos um macho e uma fêmea da localidade de Iauaretê, Amazonas, Brasil, que nos permitiram fazer uma redescrição do gênero *Dryptopelmides*, com desenhos do bulbo copulador e da apófise tibial do macho e dos receptáculos seminais da fêmea, além da observação de outros caracteres importantes.

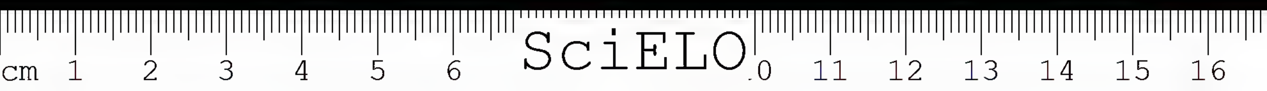
Estabelecemos a espécie nova *Dryptopelmides rondoni* nome dado em homenagem à IX Operação Rondon.

REDESCRIÇÃO DO GÊNERO

Área ocular paralela; cômoro ocular baixo, principalmente na fêmea; face externa do trocanter dos palpos com pelos curtos, plumosos e algumas cerdas; coxa I, acima da sutura, com pelos longos, deitados, dirigidos para a frente e

* Chefe da Secção de Artrópodos Peçonhentos, Instituto Butantan.
** Bolsista do CONSELHO NACIONAL DE PESQUISAS, Rio de Janeiro.

Endereço para correspondência:
C.P. 65, São Paulo, Brasil



com algumas cerdas rígidas; abaixo da sutura quase glabra e com algumas setas curtas e rígidas; escópulas tarsais divididas: no macho, na perna I a divisão é pouco nítida, já na fêmea é mais visível; todos metatarsos com escópula dividida; lábio e ancas com numerosas cúspides; tíbia I do macho com apófise dupla, desigual, flexionande-se o metatarso do lado externo da apófise ventral; bulbo com êmbolo longo, fino, quase reto; receptáculos seminais da fêmea com aspecto de dois tubos com pequena ramificação lateral.

Êste gênero difere, segundo Strand, de *Stichoplastus* Simon, 1889 porque os olhos medianos anteriores são menores do que os laterais anteriores; as escópulas tarsais das pernas posteriores não são divididas por uma linha estreita de cerdas, mas esta ocupa um terço da largura do segmento e de suas escópulas laterais no ápice; a fóvea torácica é recurva. Difere de *Chaetopelma* Ausserer, 1871 porque o cefalotórax é pouco elevado, a fila de olhos anteriores é procurva; os olhos médies posteriores são nitidamente menores do que os anteriores; os metatarsos possuem mais de um espinho basal. Difere de *Dryptopelma* Simon, 1889 porque o cômoro ocular é baixo; os metatarsos posteriores são escopulados apicalmente e os anteriores possuem escópulas até a base.

Dryptopelmides rondoni n. sp.

Holótipo macho e parátipo fêmea, frasco N.º 4090 da coleção de ORTHONATHA da Secção de Artrópodos Peçonhentos do Instituto Butantan.

Procedência: Iauaretê, Amazonas, Brasil.

Col. A. R. Hoge, F. Saliba, N. P. Santos, Janeiro 1971.

Medidas:

Comprimento total: 30,0mm
Largura do cefalotórax: 11,0mm
Largura do lábio 1,0mm
Largura do esterno 4,3mm
Comprimento do cefalotórax 14,mm
Comprimento do lábio: 1,1mm
Comprimento do esterno: 4,5mm
Comprimento do abdomen 11,0mm
Fiandeiras superiores: artículo basal 1,6mm; médio 1,4mm e apical 1,9mm
Cômoro ocular: comprimento 1,5mm e largura 2,1mm
Bulbo: comprimento 1,2mm; largura na região mediana 1,1mm

Comprimento das pernas:

	fêmur	patela	tíbia	metatarso	tarso	Total
I	12,5	6,0	11,0	9,0	5,8	44,3
II	10,0	5,5	9,0	10,0	5,5	40,0
III	9,0	4,5	8,0	12,5	5,5	39,0
IV	13,0	5,0	11,5	17,5	7,5	54,5

Quetotaxia:

Fêmures: I e II com 3 a 4 dorso lat. ant.; III e IV com 7 a 11.

Patelas: I e II sem espinhos; III e IV com 1 lat. ant. *Tíbias:* I com 2 ventrais apicais, 2 álat. ant. e 2 a 3 dorso lat. post.; III e IV com cerca de 12. *Metatarsos:* I e II com 1 sub apical ventral e 3 ventrais lat. ant.; III e IV com cerca de 18 distribuídos irregularmente.

Cefalotórax, quelíceras e pernas com pelos cor de ferrugem, curtos e alguns mais longos e mais claros. Dorso do abdomen com abundantes pelos longos, avermelhados. Fóvea torácica curta, levemente recurva. Cômoro ocular baixo. Olhos em duas filas paralelas, a anterior procurva ,isto é, uma reta tangente à borda anterior dos MA corta os LA no têrço anterior. MA redondos, pouco menores que os LA, que são ovais. Separados entre si menos de um raio e ainda menos dos LA. MP os menores de formato ligeiramente triangular, quase contíguos aos LP e estes também muito próximos dos LA. Lábio e ancas dos palpos com numerosas cúspides, pequenas. Siglas posteriores ovais e separadas da margem um diâmetro transversal. Sulco ungueal com 14 a 15 dentes, os distais maiores e junto aos proximais uma porção de dentículos. Face externa do trocanter dos palpos com pelos plumosos, abundantes, deitados, dirigidos para a frente e algumas cerdas negras. Abaixo da sutura a área é quase glabra, apresentando apenas algumas setas curtas e rígidas.

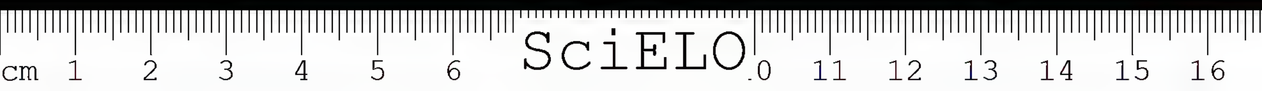
Tarsos com duas garras pectinadas em série única, com 6 a 7 pequenos dentes, decrescentes do ápice à base. Tufos subungueais presentes e escópulas tarsais divididas. Na perna I a divisão é pouco nítida, sem cerdas, na perna II já é mais nítida, havendo uma estreita linha divisória de cerdas que se abre sob forma de um pequeno losango sob os tufos. Nas pernas III e IV a divisão é formada por uma faixa de cerdas que vai alargando em direção ao ápice onde ocupa um têrço da largura do segmento. Todos metatarsos são escopulados. Em I e II as escópulas atingem quase a base do segmento e apresentam linha divisória de cerdas, em III atingem um terço e em IV um quinto apical. O bulbo copulador apresenta forma de pera com êmbolo longo, fino e quase reto. Tibia I com duas apófises situadas na face ventral anterior. O ramo mais ventral é o maior e apresenta, dorsalmente, um espinho forte; o ramo menor também apresenta um espinho lateral que acompanha a curvatura da apófise.

Esta espécie distingue-se de *D. ludwigi* Strand 1907, pelo colorido, pelas sigilas, pela espinulação, pela relação de comprimento entre os tres artículos das fiandeiras superiores e pela dentição das quelíceras.

Fêmea:

Medidas:

Comprimento total: 34,0mm Comprimento do cefalotorax: 14,0mm
Largura do cefalotorax: 11,0mm Comprimento do lábio: 2,4mm
Comprimento do esterno 4,8mm Comprimento do abdomen: 14,5mm
Fiandeiras superiores: artículo basal: 1,8mm; médio: 1,4mm e apical: 2,3mm



Cômoro ocular: comprimento 1,6mm largura: 2,2mm
Receptáculos seminais: 0,7mm

Comprimento das pernas:

	fêmur	patela	tíbia	metatarso	tarso	total
I	11,2	6,3	8,7	7,5	5,5	39,2
II	10,0	5,5	7,5	7,5	5,3	35,8
III	9,0	4,5	7,0	9,0	5,0	34,5
IV	12,5	5,0	11,0	14,0	6,0	48,5

Difere do macho pelo colorido do dorso do abdomen que apresenta pelos escuros, curtos e entremeados por longos de cor amarelada. O cômoro ocular é muito baixo, quase não se destacando do cefalotórax.

A linha de olhos anteriores é mais procurva, sendo que uma reta tangente à borda anterior dos MA corta os LA no meio. A divisão das escópulas na perna I já apresenta cerdas e é mais nítida do que no macho. O metatarso III possue escópula na metade apical e o metatarso IV no quarto apical. O tarso do palpo também apresenta uma escópula dividida por linha de cerdas. Os receptáculos seminais tem a forma de dois pequenos tubos curvos, apresentando cada um, uma pequena ramificação lateral.

DISCUSSÃO

A existência de espécies sul-americanas pertencentes ao gênero *Chaetopelma* Ausserer, 1871, foi posta em dúvida por Simon apesar de ter sido descrita *C. longipes* L. Koch in Ausserer, 1875, baseado num macho de Puerto Cabello, Venezuela. Simon em sua viagem por aquele país não reencontrou esta espécie e em 1903 tirou o gênero da América, sem estabelecer, porém, um lugar para *longipes*.

Comparando-se as descrições de *C. longipes* e *D. ludwigi* verificam-se grandes semelhanças, coincidindo ainda o local de captura. A principal diferença, segundo as duas descrições, sumárias, reside na divisão das escópulas, nas pernas anteriores. Realmente este caracter apresenta-se de diferente maneira em macho e fêmea, como pudemos verificar nos exemplares de Iauaretê. Portanto, cremos que *D. ludwigi* Strand, 1907 é sinônimo de *C. longipes* L. Koch in Ausserer 1875, devendo prevalecer o nome *Dryptopelmides longipes*.

SUMMARY — Strand in 1907 could only describe incompletely his genus *Druptopelmides*, for the type specimen, a female, was very damaged. Also he did not mention the aspect of the spermathacae.

Based on a male and a female from Iauarete, Amazonas, Brazil, we redescribe this genus and establish a new species *Dryptopelmides rondoni* which differs from *D. ludwigi* by the colour, the dentition of the chelicera, the lenght of the segments of the upper spinnerets and the spine formulae.

UNITERMS — Redescription of *Dryptopelmides* — *D. rondoni* — Sistematic

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Dr. M. Grasshoff do Forschungsinstitut Senckenberg, Frankfurt o envio de biografia, bem como à Sra. Delma V. Travassos pela confecção dos desenhos.

Relação das figuras:

1. Bulbo copulador do macho
2. Bulbo copulador do macho
3. Apófises tibiais do macho
4. Receptáculos seminais da fêmea

BIBLIOGRAFIA

AUSSERER, A. — Beiträge zur Kenntniss der Arachniden Familie der Territelariae Thorell (Mygalidae Autor). *Verh. zool. bot. Ges. Wien*, 21: 190, 1871.

AUSSERER, A. — Zweiter Beitrag zur Kenntniss der Arachniden Familie der Territelariae Thorell (Mygalidae Autor). *Verh . zool. bot. Ges. Wien*, 25: 136-137, 174--175, Pr. VI, Figs. 20, 21, 1875.

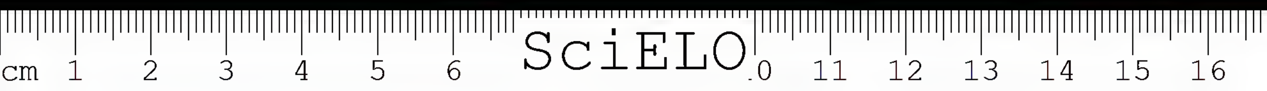
SIMON, E. — Histoire Naturelle des Araignées, Tome 1, Fascicule 1, Paris, 1892: 138-140.

SIMON, E. — Histoire Naturelle des Araignées, Tome 2, Fascicule 4, Paris, 1903: 921, 930.

STRAND, E. — Avicularidae und Atypidae des kgl. Naturalienkabinetts in Stuttgart. *Jahresh. Verh. Naturk. Würt.*, 63: 18-21, 1907.

Recebido para publicação em 30 de junho de 1972

Aceito para publicação em 4 de set. de 1972



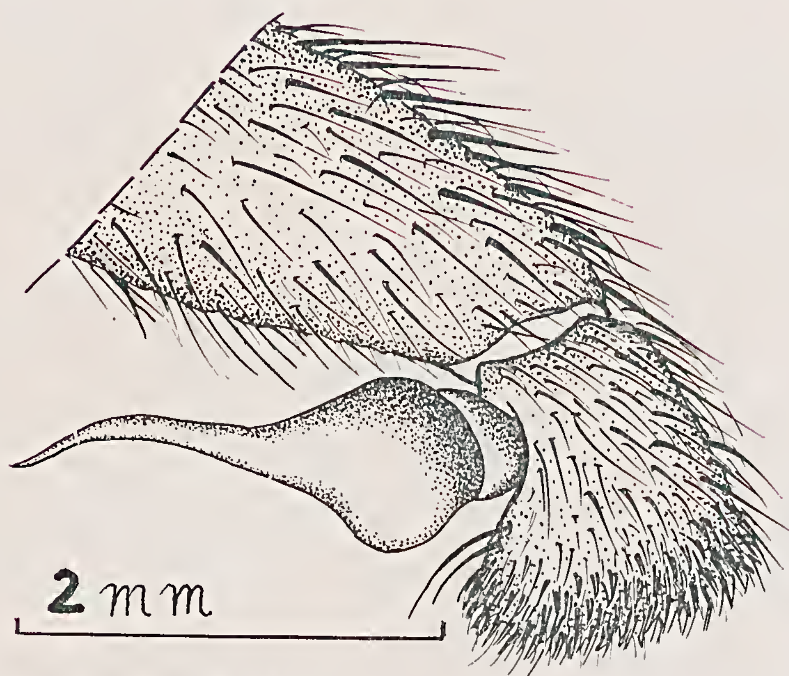


Fig. 1 — Bulbo copulador do macho.

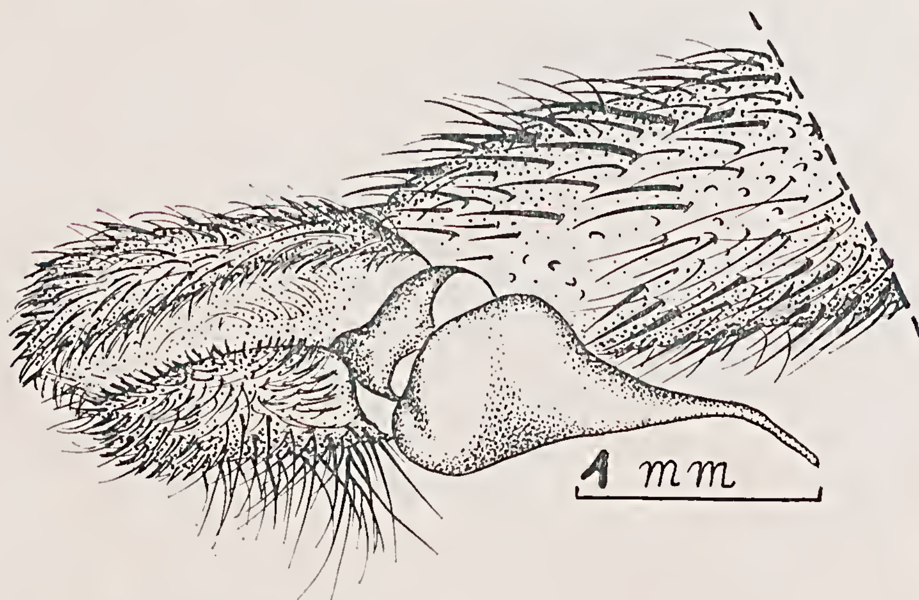


Fig. 2 — Bulbo copulador do macho.

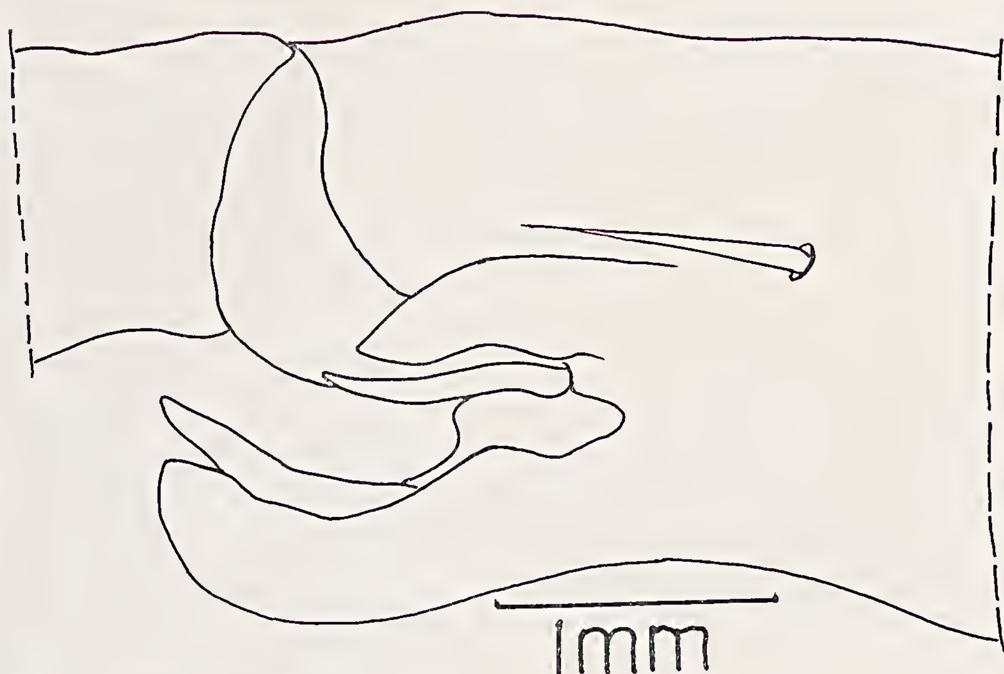


Fig. 3 — Apófises tibiais do macho.

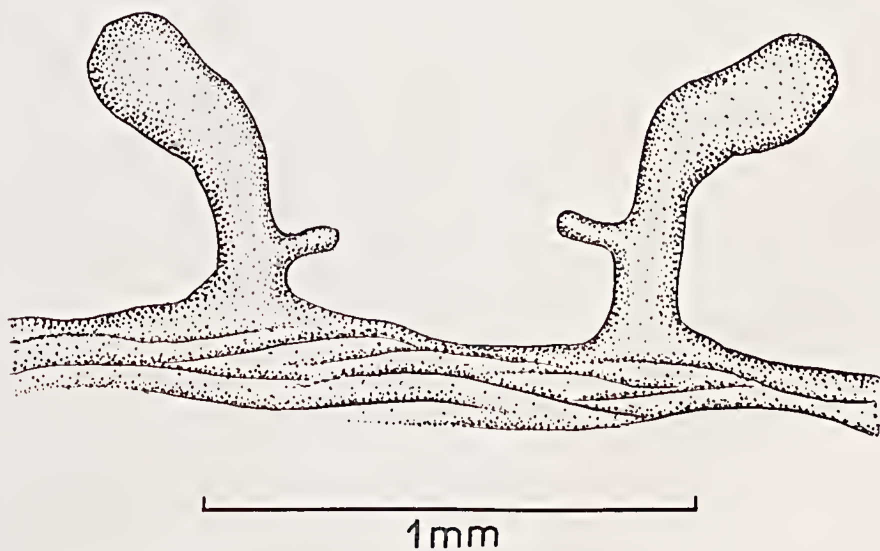
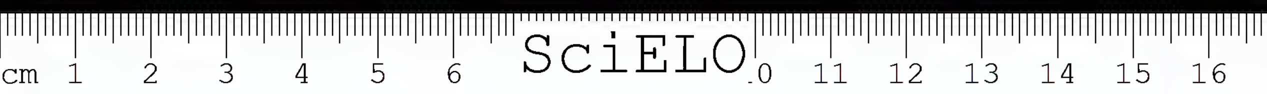


Fig. 4 — Receptáculos seminais da fêmea.


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 11 12 13 14 15 16

Mem. Inst. Butantan
36: 241-245, 1972.

ESPORULAÇÃO NO *CULEX DOLOSUS* (L. ARRIBÁLZAGA, 1891), DO *HEPATOZOON ROULEI* (PHISALIX & LAVERAN, 1913), PARASITA DA *BOTHROPS ALTERNATUS* (D. & B., 1854), TRANSFUNDIDO COM O SANGUE NA *BOTHROPS MOOJENI HOGE*, 1965. *

SAMUEL B. PESSÔA, PERSIO DE BIASI** e DULCE M. DE SOUZA***

(Laboratório da Seção de Venenos, do Instituto Butantan e Seção de Vírus Transmitidos por Artrópodos, do Instituto Adolfo Lutz)

RESUMO — Como os AA. não conseguissem fazer os mosquitos que dispunham (*Culex fatigans, C. dolosus* e *Aedes fluviatilis*), picar a *Bothrops alternatus* — "urutu" parasitada pelo *Hepatozoon roulei*, fizeram uma transfusão de sangue desta espécie para filhotes de *Bothrops moojeni*, nos quais os parasitas ficam circulando por muitos dias. Os mosquitos picaram bem os dois filhotes de *B. moojeni* e no organismo deles se desenvolveram os cistos do *H. roulei*, parasita da *B. alternatus*. Comentam os AA. a praticabilidade deste método para o melhor conhecimento da evolução de hematozoários de outras espécies e mesmo de outros gêneros, que parasitam os animais de sangue frio.

UNITERMOS: Esporulação do *Hepatozoon roulei;* * Esporulação de hemoparasita do *Bothrops alternatus;* * transfusão de sangue com hepatozoon; Esporulação no *Culex dolosus.*

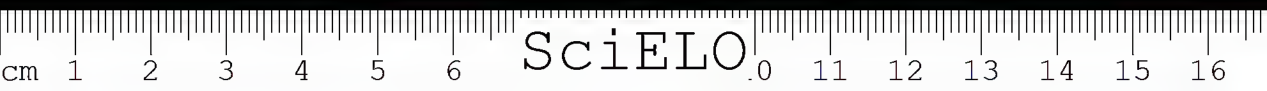
INTRODUÇÃO

Para experiencias sobre transmissão das espécies do gênero *Hepatozoon*, parasitas de serpentes terrestres, temos empregado mosquitos criados em laboratório, graças à gentileza do Dr. Oscar Souza Lopes, Chefe da Seção de Vírus Transmitidos por Atrópodos, do Instituto Adolfo Lutz. Nessa Seção são criadas duas espécies de *Culex:* o *C. fatigans* e o *C. dolosus*, e uma espécie do gênero *Aedes:* o *A. fluviatilis.*

Temos utilizado em nossos trabalhos, principalmente, mosquitos das duas espécies de *Culex*. Em geral, eles picam facilmente as serpentes terrestres, recusando-se a picar as serpentes aquáticas. Em relação às terrestres, parecem sugar melhor certas espécies do que outras. Assim, por exemplo, as arborícolas do gênero *Corallus* são mais facilmente picadas do que as terrestres propriamente ditas, como a *Bothrops moojeni* — "caiçaca" e a *Bothrops jararaca* — "jararaca". Destes mosquitos, poucos foram os exemplares que em nossos ensaios picaram a "cascavel": *Crotalus durissus terrificus* e *C. d. collilineatus* e recusaram-se sempre a picar a *Bothrops alternatus* — "urutu". Nas várias tentativas feitas por nós, com as duas espécies de *Culex* citadas anteriormente e com o *A. fluviatilis*, todos os mosquitos morreram sem se engurgitar, na gaiola em que foram colocados juntos com a "urutu".

* Com auxílio do Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan.
** Do Instituto Butantan.
*** Do Instituto Adolfo Lutz.

Endereço para correspondência:
C.P. 65, São Paulo, Brasil



PESSOA, S. B., DE BIASI, P. e SOUSA, D. M. — Esporulação do *Culex dolosus* (L. Arribálzaga, 1891) do *Hepatozoon roulei* (Phisalix & Laveran, 1913) parasita da *Bothrops alternatus* (D. & B., 1854) transfundido com o asngue na *Bothrops moojeni* Hoge, 1965. *Mem. Inst. Butantan, 36*: 241-244, 1972.

Para conseguirmos em mosquitos a evolução do *H. roulei,* parasita da "urutu" (fig. 1), usamos do seguinte artifício: fizemos uma transfusão do sangue de uma "urutu" parasitada por aquela espécie de hepatozoon, em duas "caiçacas" recém-nascidas que se mostraram negativas aos exames de sangue. Como foi por nós verificado e que será relatado em outro trabalho, estes esporozoários circulam durante alguns dias ,aparentemente sem se alterarem, no sangue da cobra receptora, dentro dos eritrócitos da cobra doadora, fato este observado por Phisalix [1]. Como os mosquitos *Culex* das duas espécies com que trabalhamos picam facilmente a *B. moojeni* — "caiçaca", conseguimos desta forma a esporogonia do *H. roulei* no *C. dolosus.*

MATERIAL E MÉTODOS

A serpente doadora foi uma *B. alteratus* — "urutu", recebeu o nosso número de registro H-131, e estava fortemente infectada pelo *H. roulei.*

Usamos como receptoras duas cobrinhas da espécie *B. moojeni* "caiçaca", que se mostraram negativas a repetidos exames de sangue, sendo registradas em nossa série F-108 e F-110.

Cerca de 1,5 cc. de sangue da cobra doadora (sangue com *H. roulei*) foi diluído em 2,5 cc. de solução isotônica de citrato de sódio e injetados 2 cc. em cada uma das cobrinhas, às 16 horas de 10/02/72. Após meia hora, examinamos uma gota de sangue destas receptoras e constatamos a existência de numerosos eritrócitos parasitados no sangue periférico de ambas as cobrinhas (fig. 2). Foram elas às 18 horas introduzidas em uma gaiola contendo cerca de trinta *C. dolosus,* fêmeas. Aí permaneceram até o dia seguinte, quando verificamos que os mosquitos tinham sugado as cobrinhas. Foram elas retiradas da gaiola e os mosquitos permaneceram em temperatura entre 25° a 29° C, sendo dissecados no 8.°, 11.° e 14.° dias após haverem picado as cobrinhas, para pesquisa das formas evolutivas do hepatozoon.

RESULTADOS OBTIDOS

Os mosquitos dissecados oito dias após a picada revelaram a existência de cistos jovens do *H. roulei* (fig. 3), na cavidade geral ao redor do estômago do *C. dolosus.* Onze e quatorze dias após a picada, já se encontravam cistos maduros, isto é, com esporozoitas no interior dos esporocistos (fig. 4). Os cistos (fig. 5) apresentavam-se com os mesmos caracteres daqueles encontrados em outras espécies de serpentes, cujos ciclos esporogônicos foram por nós anteriormente realizados (3,4,5).

COMENTÁRIOS

Pensamos que a experiência que acabamos de relatar tem interesse não somente sob o ponto de vista parasitológico, como na biologia geral. Realmente,

tinhamos dificuldades em realizar o ciclo evolutivo do *H. roulei*, parasita da *B. alternatus* — "urutu", no *C. dolosus* e *C. fatigans*, pois estes mosquitos se recusavam a picar aquela serpente. Porém, picam eles com certa facilidade o *B. moojeni* daí a idéia de transfundir o sangue daquela espécie para esta, possibilitando a transferência dos parasitas. Os mosquitos ao picarem as serpentes receptoras, infectaram-se e assim pudemos conhecer as formas sexuadas do *H. roulei*, da *B. alternatus*. Este processo porém, só pode ser empregado no caso do hepatozoon, pois outros hemoparasitas de serpentes, quando transfundidos com o sangue, são destruidos rapidamente, como se dá com os tripanosomas. Quanto aos plasmódios, se se tratar de receptor da mesma espécie ou de espécie afim, pode haver transmissão do parasita e nunca a sua transferencia, como no caso do hepatozoon.

Sob o ponto de vista geral, podemos levantar a hipótese de este processo ser utilizado para o melhor conhecimento da evolução de hematozoários de outros gêneros.

SUMMARY — In their experiments, the authors did not achieve any biting by the mosquitoes (*Culex fatigans*, *C. dolosus and Aedes fluviatilis*), available at their laboratory, of the snake *Bothrops alternatus* — "urutu", infected by *Hepatozoon roulei*. Therefore, they transfused blood from the infected species (*B. alternatus*) into two young *B. moojeni*. This species is well bitten, and the parasite (*H. roulei*) consequently developed cysts in the organisms of the mosquitoes.

In the present paper we suggest the practicability of this method for better knowledge of the evolution of other species and genera of hemoparasites from cold-blooded vertebrates.

UNITERMS — Sporulation of *Hepatozoon roulei;* * Hemoparasite sporulation of the *Bothrops alternatus;* * Transfusion of blood containing hepatozoon; Sporulation in *Culex dolosus;*

BIBLIOGRAFIA

1. PHISALIX, Mme. — Essai d'infection sur la *Vipére asper et* les couleuvres *Tropidonotus* avec *Haemogregarina roulei. C. R. Soc. Biol.* pp. 110-111, 1913.
2. PHISALIX, Mme. LAVERAN, A. — Sur une Hémogrégarine nouvelle de *Lachesis alternatus. Bull. Soc. Path.* exot. 6: 330 — 333, 1913.
3. PESSÔA, S. B., SACCHETA, L. e CAVALHEIRO, J. — Notas sôbre hemogregarinas de serpentes brasileiras. X — Hemogregarinas da *Hydrodynastes gigas* (Duméril et Bribon) e sua evolução. *Rev. lat-amer. Microbiologia* 12: 197-200, 1970.
4. PESSÔA, S. B., CAVALHEIRO, J. e SOUSA, D. M. — Notas sôbre hemogregarinas de serpentes brasileiras. XIII Evolução esporogônica da hemogregarina da *Thamnodynastes strigatus* (Colubridae). *Arq. Inst. Biológico* 37 (3)27: 213 — 217, 1970.
5. PESSÔA, S. B., BELLUOMINI, H. E., BIASI, P. e SOUZA, D. M. Notas sôbre Hemogregarinas de serpentes brasileiras. XIV — Esporogonia da Haemogregarina da *Bothrops moojeni* Hoge, 1965, no *Culex* (*Culex*) *dolosus* (L. Arribálzaga), 1891. *Arq. Inst. Biol.*, S. Paulo 38 (4): 253-258, 1971.

Recebido para publicação em 30 de junho de 1972
Aceito para publicação em 16 de outubro de 1972

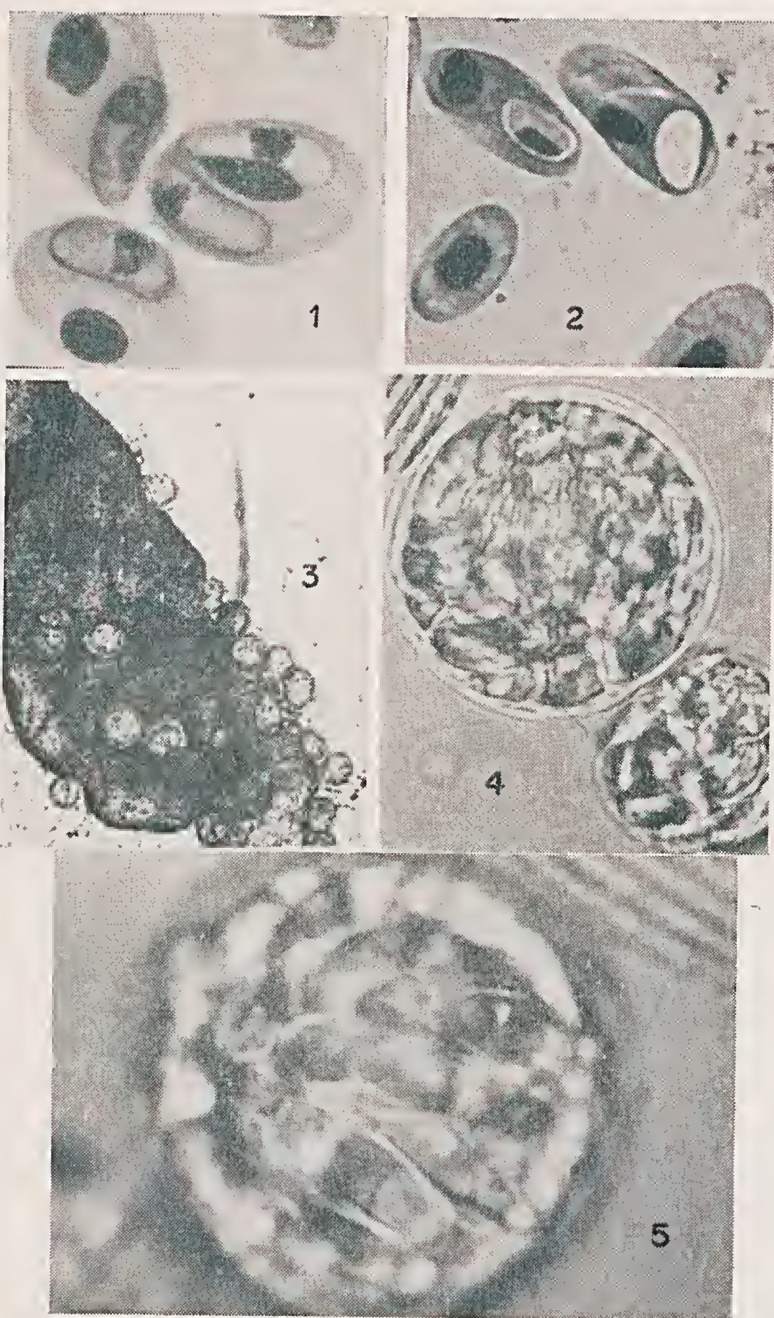


Fig. 1 — Sangue de *B. alternatus*, parasitado por *H. roulei* que foi transfundido na *B. moojeni* (aumento 2.000 x).
Fig. 2 — Sangue de *B. moojeni*, depois de transfundido com o sangue de *B. alternatus*. Notar que os eritrócitos parasitados são de *B. alternatus* (aumento 1.700 x).
Fig. 3 — Cistos jovens de *H. roulei* na cavidade geral do *C. dolosus* ao redor do seu estômago (objetiva sêca, aumento 200 x).
Fig. 4 — Esporocisto com esporozoita de *H. roulei* na cavidade geral do *C. dolosus* que picou o *B. moojeni* (contraste de fase, aumento 1.700 x).
Fig. 5 — Idem (contraste de fase, aumento 2.000 x).

Mem. Inst. Butantan
36: 245-249, 1972.

NOVAS OBSERVAÇÕES SÔBRE TRANSMISSÃO CONGÊNITA DE HEMATOZOÁRIOS DE SERPENTES PEÇONHENTAS VIVÍPARAS.*

FERSIO DE BIASI**, SAMUEL B. PESSÔA e HÉLIO E. BELLUOMINI**
(Laboratórios da Seção de Venenos do Instituto Butantan)

RESUMO — Os autores relatam novas observações sobre serpentes peçonhentas vivíparas, prenhes, com os seguintes hematozoários: hepatozoon, tripanosoma e plasmódio. Elaboram a hipótese de que os gametócitos dos hepatozoons, recém formados ou jovens, produzidos na serpente materna, levados pela corrente sanguínea à circulação uterina, indo ter à circulação dos embriões, onde atravessam as membranas embrionárias, por mecanismo ainda não elucidado penetram nos seus eritrócitos, mas, como os autores verificaram, somente ocorre nos últimos estágios da prenhez (estágios 30 a 37 da escala de Zehr). Não encontraram nos casos observados a transmissão congênita do tripanosoma e nem do plasmódio.

UNITERMOS — Transmissão congênita de hematozoários; transmissão congênita em serpentes; hepatozoon, tripanosoma e plasmódio.

INTRODUÇÃO

Em nota anterior (1971), os autores (De Biasi e cols.[1]), mostraram que a transmissão congênita de hemogregarinas do gênero *Hepatozoon*, parasita de serpentes peçonhentas vivíparas, verifica-se regularmente e quanto mais forte o parasitismo materno, maior será o número de filhotes que nascem parasitados e mais numerosos os parasitas no sangue destes filhotes.

Nesta nota, trazemos novas observações sobre a transmissão congênita de hepatozoons e a ausência desta transmissão no que se refere aos tripanosomas e plasmódio, naquelas serpentes.

MATERIAL E MÉTODOS

As serpentes prenhes que chegaram ao Laboratório da Seção de Venenos, do Instituto Butantan, foram examinadas para a determinação do parasitismo sanguíneo e aquelas que se encontravam positivas para hemoparasitas eram separadas em caixas à prova de insetos e outros artrópodos, para estudo de suas crias.

---

* Com auxílio do Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan.
** Do Instituto Butantan.

Endereço para correspondência:
C.P. 65, São Paulo, Brasil

Os exames de sangue foram feitos não só a fresco, entre lâmina e lamínula, como também por esfregaços fixados pelo metanol e corados pela Giemsa.

Nascidos os filhotes, foram eles examinados pelos mesmos processos, logo após o nascimento ou no máximo dois dias depois.

A anotação do parasitismo foi feita da seguinte forma: consideramos infecções leves, quando os esfregaços de sangue das serpentes apresentavam no mínimo um parasita para cada dois ou tres campos. Em geral, dispensamos as serpentes positivas com menor número de parasitas, apesar de termos, inicialmente feito algumas observações em casos de parasitismo muito fraco. Infecção média, quando encontramos de um a tres parasitas por campo e acima desta frequência, a infecção foi considerada forte.

Nos casos em que autopsiamos fêmeas prenhes, porém não a termo, a idade provável dos embriões foi referida de acordo com a escala de Zehr (4).

RESULTADOS OBTIDOS

Examinamos até agora sessenta serpentes peçonhentas prenhes, vivíparas, pertencentes às seguintes espécies dos gêneros *Bothrops* e *Crotalus*: *B. moojeni* Hoge, 1965; *B. neuwiedi* Wagler, 1824; *B. cotiara* (Gomes, 1913); *B. jararaca* (Wied, 1824); *C. durissus terrificus* (Laurenti, 1768) e *C. d. collilineatus* Amaral, 1926, obtendo-se os seguintes resultados, que incluem alguns exemplares já relatados na nota anterior (1), os quais assinalamos por um asterisco.

Da *C. d. terrificus* e *C. d. collilineatus* examinamos 43 serpentes prenhes, encontrando: dezesseis positivas só para hepatozoon, uma positiva para hepatozoon e tripanosoma, quatro positivas só para tripanosoma. Destas, anotamos as seguintes, de acordo com nossa numeração:

G-6, com forte infecção para hepatozoon, pariu sete filhotes positivos para hepatozoon;

G-7*, com fraca infecção para hepatozoon, pariu sete filhotes, sendo só um para hepatozoon;

G-10*, com infecção média para hepatozoon, pariu sete filhotes positivos para hepatozoon;

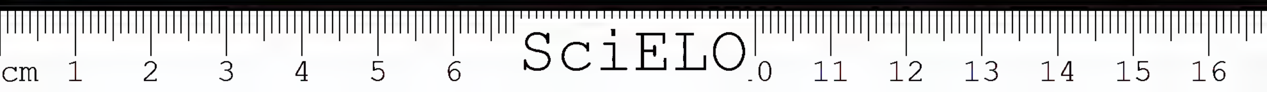
G-13*, positiva para tripanosoma, pariu oito filhotes, todos negativos; (3)

G-14, com infecção fraca para hepatozoon, pariu dois filhotes, sendo um positivo e um negativo para hepatozoon;

G-48, positiva para tripanosoma e com infecção média para hepatozoon, pariu nove filhotes, todos positivos para hepatozoon e, negativos para tripanosoma;

Quatro fêmeas, cuja prenhez não estava a termo e que foram por nós autopsiadas, os embriões examinados mostraram os seguintes resultados:

G-35, com infecção média para hepatozoon, quatro embriões examinados (estágio 20 da escala Zehr), todos negativos;



DE BIASI, P., PESSOA, S. B. e BELLUOMINI, H. E. — Novas observações sobre transmissão congênita de hematozoários de serpentes vivíparas. *Mem. Inst. Butantan, 36*: 245-249, 1972.

G-41, com infecção média para hepatozoon, quatro embriões examinados (estágio 30 da escala Zehr), todos negativos;

G-42, com infecção média para hepatozoon, cinco embriões examinados (estágio 26 da escala Zehr), todos negativos;

G-44, positiva para tripanosoma, seis embriões examinados (estágio 30 da escala Zehr), todos negativos.

Da *B. moojeni*, examinamos cinco serpentes prenhes, encontramos uma positiva para hepatozoon e outra para hepatozoon e plasmódio, ao mesmo tempo. Damos as seguintes anotações;

G-3*, com infecção forte para hepatozoon, pariu sete filhotes, todos positivos para hepatozoon;

G-11*, com infecção média tanto para hepatozoon como para plasmódio, pariu dez filhotes, dos quais só pudemos examinar sete, todos positivos para hepatozoon e negativos para plasmódio.

Da *B. neuwiedi* examinamos seis serpentes prenhes, sendo encontradas duas positivas para hepatozoon;

G-17, com infecção média para hepatozoon, pariu dez filhotes, todos positivos para hepatozoon;

G-58, com infecção média para hepatozoon, prenhez não a termo, autopsiada poucos dias antes de parir, os onze embriões (estágio 37 de escala Zehr) mostraram-se todos fortemente positivos para hepatozoon.

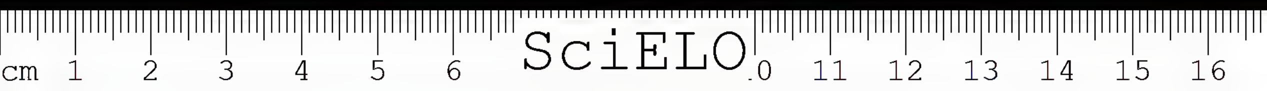
Finalmente, foram examinadas tres *B. cotiara* e tres *B. jararaca*, prenhes, mas negativas para hematozoários.

Sublinhamos as observações das serpentes G-13 e G-14, ambas "cascavél", parasitadas pelo tripanosoma, cujas crias foram negativas, bem como a "cascavél" G-48, com tripanosoma e hepatozoon, cuja cria só apresentou o hepatozoon; a "caiçaca" G-11, parasitada pelo hepatozoon e plasmódio, que pariu filhotes somente parasitados pelo hepatozoon.

COMENTÁRIOS

Como sabemos, são independentes, nas serpentes vivíparas, as circulações materna e fetal; assim, os hematozoários não podem passar diretamente do sangue materno para o fetal. Para explicar o encontro de hepatozoon no sangue das crias recém-nascidas, poderiamos admitir a hipótese das erosões sobre os capilares uterinos das serpentes permitirem esta transmissão, porém, tal hipótese está hoje abandonada (Hoffman, 1970) (2).

Após examinarmos esfregaços das membranas embrionárias (fig. 1) em casos de serpentes infectadas pelo hepatozoon, nos quais estes parasitas se



mostravam fora dos eritróeitos, verificamos a existêneia de gametócitos que nos pareceram ainda jovens, isto é, recém-formados. Parece-nos pois, que os eistos esquizogônicos que se formam em vários orgãos internos das serpentes, além de produzir os esquizontes, produzem também os gametócitos tal como se dá na esquizogonia do plasmódio da malária. Estes gametócitos, assim formados, que invadem os eritrócitos da serpente materna, por mecanismo ainda não elucidado, também são levados pela corrente sanguinea à circulação uterina e aí atravessam as membranas embrionárias, penetram nos eritróeitos dos embriões (figs. 2, 3, 4), igualmente por mecanismo desconhecido, mas que, como foi por nós verificado, somente ocorre nos estágios finais da prenhez (entre os estágios 30 e 37 da escala de Zehr).

No caso da infecção pelos tripanosomas, organismos que são cerca de tres vezes maiores que o hepatozoon e apresentam movimento rotatório (tipo "rotatorium"), parece não terem possibilidades de atravessar as membranas embrionárias.

Em relação ao plasmódio, nossas observações são poucas, mas verificamos que tanto os seus gametócitos como os merozoítas, talvez por sua fragilidade não penetram como os hepatozoon. De qualquer forma, não constatamos em nossas poucas observações haver malária congênita nas serpentes vivíparas.

SUMMARY — The authors relate additional observations on pregnant venomous viviparous snakes, carrying the following hemoparasites: hepatozoon, trypanosoma and plasmodium, They sustain the hypothesis that the newly formed young gametocytes, produced in the maternal snake, and carried by the blood circulation to the uterine circulation, and by passing through the embryonic membrane, enter the fetal circulation where, by a mechanism not yet clear, they invade the fetal erythrocytes. This occurs, however, only at the last stages of pregnancy (stages 30 — 37, Zehr's scale) as verified by the authors.
No congenital transmission of neither trypanosoma nor plasmodium has been found in the observed cases of parasitism.

UNITERMS — Congenital transmission of hematozoa; Congenital transmission in snakes; Hepatozoon, trypanosoma and plasmodium.

BIBLIOGRAFIA

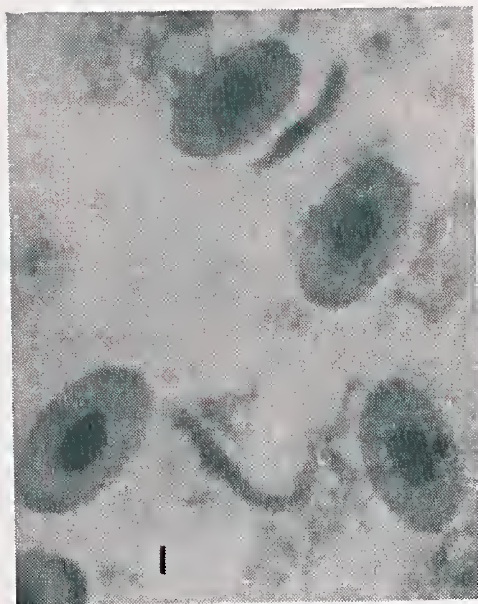
1. DE BIASI, P., PESSÔA, S. B. e BELLUOMINI, H. E. — Nota sôbre transmissão congênita de Hemogregarinas em duas espécies de serpentes peçonhentas vivíparas. *Atas da Soc. Biologia*, R. de Janeiro, 15 (1): 27,28; figs. 1 e 2, 1971.

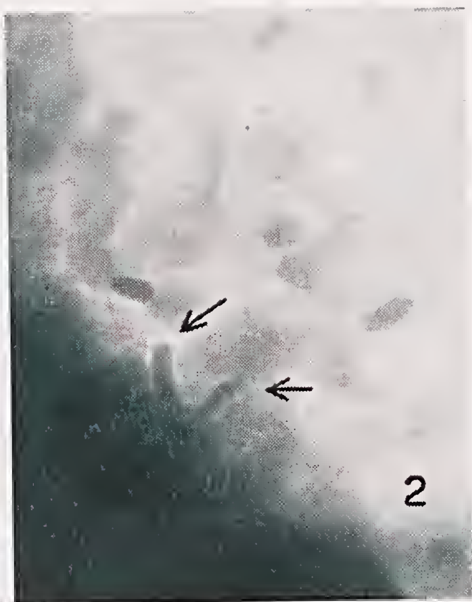
2. HOFFMAN, L. H. — Placentation in the Garter Snake, *Thamnophis sirtalis*. *J. Morphology*, 131 (*1*): 57-88; 5 pl., 18 figs., 1970.

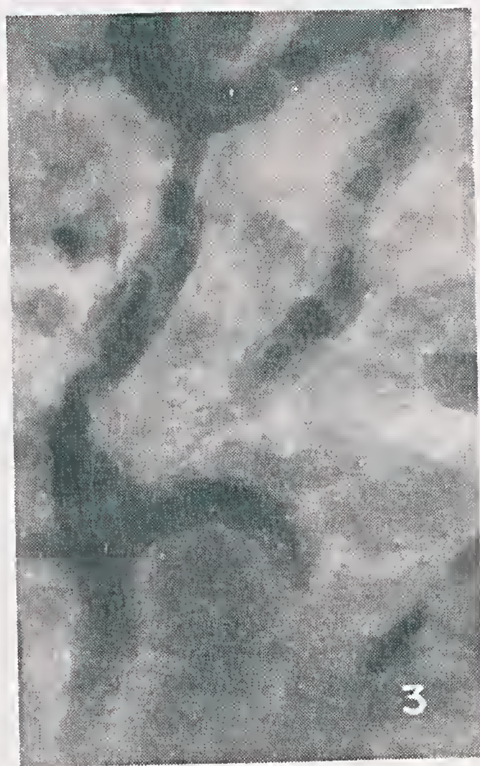
3. PESSÔA, S. B. e DE BIASI, P. *Trypanosoma cascavelli* sp. n. parasita da cascavel: *Crotalus durissus terrificus* (Laurenti). *Atas da Soc. Biologia*, R. de Janeiro, 15 (2): 67-70, figs. 1-4, 1972.

4. ZEHR, D. R. — Stages in the Normal Development of Common Garter Snake, *Thamnophis sirtalis sirtalis*. *Copeia* 1962 (2): 322-329, figs. 1-4, 1 tab., 1962.

Recebido para publicação em 30/6/72
Aceito para publicação em 16/10/72







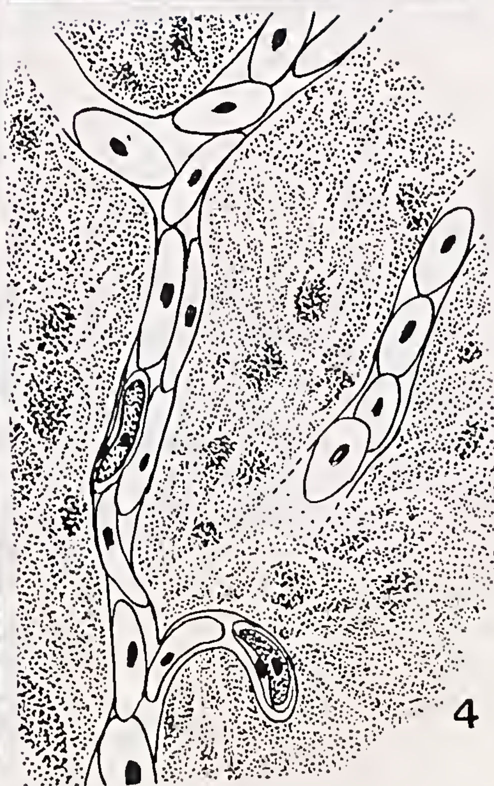
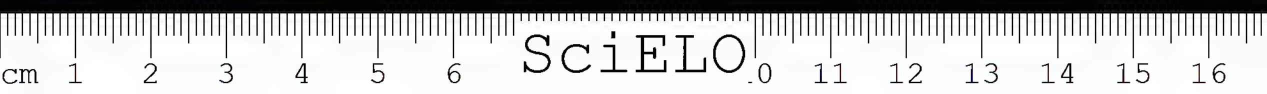


Fig. 1 — Esfregaço de membrana corialantoide, mostrando a presença de gametócitos livres do hepatozoon (coloração Giemsa; imersão, 1.200 x).

Fig. 2 — Membrana corialantoide distendida e corada pelo Giemsa, mostrando dois gametócitos do hepatozoon livres, aderidos à parede de um capilar sanguíneo (imersão, 1.000 x).

Fig. 3 — Membrana corialantoide distendida e corada pelo Giemsa, mostrando gametócitos do hepatozoon intra-eritrocíticos, circulando nos capilares sanguíneos (imersão, 1.000 x).

Fig. 4 — Desenho esquemático da microfotografia anterior.


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 0 11 12 13 14 15 16

Mem. Inst. Butantan
36: 251-262, 1972.

BIONOMIA de *Triatoma pseudomaculata* CORREA E SPINOLA, 1964, EM LABORATÓRIO

THEREZINHA J. HEITZMANN-FONTENELLE

Seção de Parasitologia. Instituto Butantan.

RESUMO — *Triatoma pseudomaculata* Correa e Spinola, 1964-espécie de ampla distribuição nas regiões centro e nordeste do Brasil e na qual já se constatou a infecção por tripanossomos do tipo *cruzi* — é estudada desde a eclosão até adulto, anotando-se em cada estádio, dados de interesse bionomico como ecdises, tempo de duração dos estádios ninfais e adulto, intervalos entre as refeições e mortalidade. Dos Triatomineos brasileiros de biologia já estudada, este foi o que apresentou maior tempo de duração do seu ciclo evolutivo.

UNITERMOS — *Triatoma pseudomaculata* Correa e Spinola, 1964: ciclo evolutivo em laboratório: regime alimentar.

INTRODUÇÃO

Das espécies brasileiras de Triatomineos tem-se esparsos dados biológicos. Dias (1955) apresenta dados sobre o tempo de evolução de algumas espécies. Lent e Jurberg (1968) já nos dão o ciclo mais detalhado de *Panstrongylus geniculatus* (Latreille, 1811) e Juarez (1970) os de *Triatoma arthurneivai* Lent e Martins, 1940.

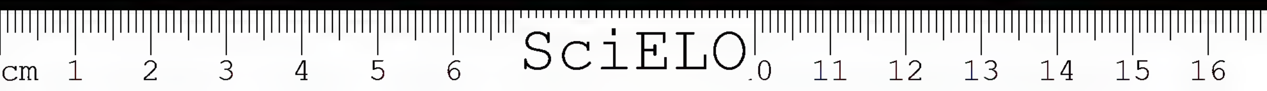
Sendo *Triatoma pseudomaculata* Correa e Spinola, 1964 de ampla distribuição no Brasil (Piaui, Ceará, Rio Grande do Norte, Pernambuco, Alagoas, Goiás, Distrito Federal, Bahia e Minas Gerais) e sendo já constatada a sua infecção por *Trypanosoma cruzi* em várias localidades (Correa, 1968) nos propuzemos a um estudo detalhado de sua evolução em laboratório.

MATERIAL E MÉTODOS

Tendo recebido de Recife, PE, varios exemplares vivos desta espécie de Triatomineo, iniciamos sua criação na Seção de Parasitologia do Instituto Butantan. Decorrido algum tempo, isolamos ovos de femeas deste lote e acompanhamos o desenvolvimento de cada exemplar eclodido, anotando-se os dados de interesse.

Seguindo os métodos utilizados na criação de Mantodeos (Travassos Filho e Heitzmann, 1960), os ovos foram colocados em um frasco e a medida que as ninfas iam eclodindo, eram isoladas em frascos numerados, de pequeno

Endereço para correspondência:
C.P. 65, São Paulo, Brasil



diametro, juntamente com um pedaço de papel sanfonado para servir de suporte para inseto. Esses frascos, fechados com rolha de cortiça ou tampo de algodão, eram conservados em lugar sem muita luz direta e à temperatura ambiente.

Depois de alguns dias de vida, as ninfas eram diariamente postas para sugar (sangue humano, colocando-as na parte interna do nosso antebraço) e eram anotadas as datas das que se alimentavam. Quando as ninfas atingiram maior tamanho, passamos a alimentá-las em intervalos mais espassados e com sangue de coelho, colocando-as para sugar na parte interna das orelhas. Foi tentada a alimentação em pombo, mas o seu controle era bastante dificil porque o inseto, as vezes, afastando-se da região preparada, tentava se ocultar entre as penas. Tambem tentamos a alimentação em camundongos recem-nascidos, mas os resultados não foram satisfatórios, provavelmente porque a temperatura corporal dos camundongos nesta fase, seja relativamente baixa.

Esporadicamente era dado água, aspergindo-a nas paredes do frasco.

Somente ao atingirem o 5.º estadio ninfal, é que as ninfas foram transferidas para pequenos borréis, colocando-se dentro, tambem, um pedaço de papel sanfonado e tampando-os com gase, presa por elástico.

CICLO EVOLUTIVO

Iniciamos a criação isolada, com 45 exemplares, eclodidos entre 7 de janeiro e 2 de fevereiro de 1970; esse material, incorporado à Coleção Parasitologica do Instituto Butantan, recebeu a numeração de 901 a 945.

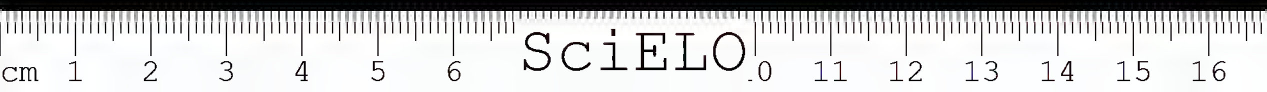
ESTADIO I

O primeiro estádio ninfal ocorreu de janeiro a março, sendo que, em 7 exemplares, se estendeu até abril. Teve uma duração de 35 a 103 dias (tabela I), oscilando a média entre 52 a 62 dias (15 exemplares).

Apesar de ser dada, diariamente, a oportunidade de se alimentarem, as ninfas só iniciaram a faze-lo depois do 9.º dia de vida (ex. n.º 901) (tabela II) e o jejum pos-natal mais longo foi de 26 dias (ex. n.º 918). A maioria fez a sua primeira refeição em prazo que oscilou entre 15 a 20 dias (18 exemplares). O tempo da refeição sanguinea, nesta fase, variou de 15 a 20 minutos.

Durante este estádio, as ninfas sugaram de 3 a 4 vezes (a maioria); 6 ninfas sugaram só duas vezes e 2 ninfas sugaram cinco vezes. O jejum pré-ecdise não é notado, como acontece com os mantodeos, sendo que o número de dias entre as refeições é, por vezes, maior que o número de dias entre a última refeição e a ecdise. O intervalo entre as refeições foi de até 42 dias (ex. n.º 911, entre a 3.ª e 4.ª refeição, enquanto levou 23 dias no jejum pré-ecdise). O maior jejum pré-ecdise foi de 24 dias (ex. n.º 925). (Tabela II).

Durante este estádio ocorreram 15 mortes, sendo que tivemos uma grande mortalidade nos 8 primeiros dias de vida (11 exemplares). Os 4 casos restantes ocorreram antes da primeira refeição, com 10, 11, 12, e 14 dias de vida.



ESTADIO II

O segundo estádio ninfal que ocorreu, principalmente, entre março e maio, levou de 34 a 222 dias (tabela I), sendo que na maioria dos exemplares, durou menos de 60 dias (19 exemplares). Apenas 4 ninfas passaram o segundo estádio com mais de 100 dias: os exemplares n.ºs 929, 942, 911 e 925 com 171, 175, 184 e 222 dias respectivamente, atravessando o inverno e indo, nesta fase de desenvolvimento, até setembro, outubro e novembro.

Durante este estádio as ninfas se alimentaram entre duas (3 ninfas) até oito vezes (2 ninfas); a maioria se alimentou tres vezes (13 ninfas). O maior intervalo entre as refeições foi de 69 dias (ex. n.º 911 entre a 4.ª e 5.ª refeição). O maior período de jejum précedise foi de 162 dias (ex. n.º 925). Ocorreram duas mortes durante esta fase: uma apenas com 18 dias neste estádio e após 2 refeições; a outra com 41 dias de duração no estádio II e após 4 refeições, ambas ocorreram no mesmo dia e 5 dias após a última refeição.

ESTADIO III

O 3.º estádio ninfal que ocorreu principalmente entre maio e novembro, durou de 50 a 241 dias (tabela I). Chamamos a atenção para um aumento bastante grande na duração deste estádio (a maioria das ninfas levou mais de 100 dias), em virtude das temperaturas frias de maio até novembro ocorridas no ano de 1970, e uma prova disto, foram as ninfas n.ºs 911, 925, 929 e 942 que tiveram o segundo estádio ninfal longo nesse mesmo período do ano, tiveram o estádio III curto, com respectivamente 50, 64, 94, e 114 dias. Apenas 5 exemplares levaram menos de 100 dias neste estádio e foram, além dos já citados n.ºs 911, 925 e 929, o de n.º 905 que levou 63 dias (abril-junho) e o de n.º 919 com 81 dias (maio-julho).

Quanto à alimentação, a maioria se alimentou de 3 a 4 vezes (15 exemplares); as 11 ninfas restantes se alimentaram de 2 a 6 vezes. O intervalo entre as refeições ficou mais espassado, embora as ninfas fossem postas para sugar regularmente, em intervalo de poucos dias. Esse periodo chegou a ser de 147 dias (ex. n.º 930, entre a 2.ª e 3.ª refeição). O ex. n.º 925 que já havia feito, no estádio II, um jejum pré-ecdise de 162 dias, só se alimentou 5 dias após a ecdise II, ficando assim, 167 dias sem se alimentar. O maior periodo de jejum pré-ecdise foi de 152 dias (ex. n.º 901) (tabela II).

Neste estádio ocorreram duas mortes, ambas após o 4.º repasto das vítimas (após 117 (ex. n.º 926) e 140 dias (ex. n.º 902) da ecdise II). Esta última ninfa citada se alimentou bem 13 dias após a ecdise e, depois disso, se alimentou por mais 3 vezes, mas sugando múito pouco em todas elas.

ESTADIO IV

No quarto estádio ninfal, que ocorreu, principalmente, entre novembro (1970) a janeiro (1971), sua duração variou de 34 a 218 dias: a maioria (17 ninfas) teve um 4.º estádio ninfal com menos de 100 dias em virtude dele ter ocorrido em meses de temperaturas elevadas (tabela I).

Quanto ao número de refeições (tabela II) 7 ninfas se alimentaram por duas vezes (sendo que 2 delas morreram 24 e 38 dias após a última refeição); 13 se alimentaram por tres vezes (sendo que 4 delas morreram 11, 11, 21 e 30 dias após a última refeição); 3 ninfas se alimentaram por quatro vezes; 2 ninfas se alimentaram por cinco vezes e apenas uma ninfa se alimentou por seis vezes (ex. n.º 919, com um estádio que durou 145 dias). O maior intervalo entre as refeições foi de 135 dias (ex. n.º 905, entre a 2.ª e 3.ª refeição).

Como os jejuns pré-ecdises do estádio anterior foram mais longos e as ninfas iniciaram a se alimentar mais tarde nesta nova fase, há jejuns entre os dois estádios de 156 (ex. n.º 932), 163 (exs. n.ºs 901 e 917) e 170 dias (ex. n.º 914). Esta ninfa (n.º 914) ficou 109 dias sem se alimentar depois da ecdise.

Neste estádio ocorreram 6 mortes: quatro em janeiro (exs. 918, 923, 927 e 930, com 61, 45, 56 e 61 dias de duração deste estádio); uma em fevereiro (ex. n.º 940, com 73 dias de duração neste estádio) e outra em julho (ex. n.º 920, com 192 dias no estádio IV, alimentando-se normalmente por tres vezes.

ESTADIO V

Nesta fase de desenvolvimento, em virtude das mortes ocorridas nos diversos estádios, as nossas observações passam a ser relativas a 20 ninfas.

Essas 20 ninfas entraram no 5.º estádio ninfal de dezembro (exs. n.ºs 919 e 928) até abril do ano seguinte (1971) (exs. n.ºs 925 e 942), sendo que a maioria, entre janeiro e fevereiro (15 ninfas). O tempo de duração deste estádio foi de 33 (ex. n.º 914) a 324 dias (ex. n.º 919) (tabela I); sendo que a maioria (14 ninfas) com menos de 100 dias.

O número de refeições variou de uma (ex. n.º 928, com um estádio de 44 dias) até seis vezes (exs. n.ºs 911, 919 e 924, com estádios de 299, 324 e 297 dias). O maior intervalo entre as refeições foi de 135 dias (ex. n.º 911, entre a 5.ª e 6.ª refeição), passando de junho a outubro sem se alimentar. O jejum pré-ecdise mais extenso foi de 11 dias (ex. n.º 929) (tabela II).

Apesar de ser um estádio onde 6 exemplares tiveram mais de 200 dias de duração, não ocorreu nenhuma morte.

ESTADIO VI

O exemplar n.º 914 teve um 5.º estádio ninfal curto com 33 dias e após a ecdise V, ainda permaneceu como ninfa. Este 6.º estádio ninfal durou 274 dias (7 de fevereiro a 8 de novembro de 1971), alimentando-se normalmente por 3 vezes, quando passou a adulto femea.

VIDA ADULTA

Obtivemos na fase adulta 14 femeas e 6 machos.

O tempo de duração da vida adulta variou de 60 a 374 dias. Como, quando encerramos essa primeira etapa das observações, em março de 1972, ainda

tinhamos 4 adultos vivos (1) esse número de dias poderá ser maior, em vista do exemplar n.º 913 que já se encontra nesta fase desde abril de 1971. Apenas 4 casos de vida adulta com menos de 100 dias (exs. n.ºs 914, 924, 925 e 942 com respectivamente 65, 98, 85 e 60 dias). Devemos assinalar que os exemplares n.ºs 914 e 925 sofreram acidentes na última ecdise, ficando defeituosos. Aparentemente, eles apresentavam as asas não completamente distendidas, mas o ex. n.º 914 não quis se alimentar nesta fase. O exemplar n.º 925 que também apresentava falta das pernas anterior e mediana do lado esquerdo, desde o 2.º estádio ninfal, alimentou-se por 4 vezes. Ambos eram femeas e conservadas virgens, conseguiram por alguns ovos.

Quanto a alimentação, os adultos o fazem em menor quantidade, nunca sendo observada uma completa repleção como nas ninfas. A duração da refeição é bastante demorada: eles sugam em varios pontos e a qualquer movimento do coelho, retraem o rostro, não mais se alimentando.

O número de refeições nesta fase foi de zero (ex. n.º 914) a 12 (ex. n.º 934), número esse que será maior pelo fato de 4 exemplares ainda estarem vivos. O maior intervalo entre as refeições foi de 92 dias (ex. n.º 931, entre a 1.ª e 2.ª refeição), (tabela II).

Foram tentados alguns acasalamentos (macho n.º 911 com a femea n.º 934; macho n.º 929 com a femea n.º 931; macho n.º 929 com a femea n.º 913), mas não foram observadas cópulas. Essas fêmeas, bem como as fêmeas virgens, fizeram posturas de poucos ovos, os quais, alguns dias após, se apresentavam murchos.

DISCUSSÃO

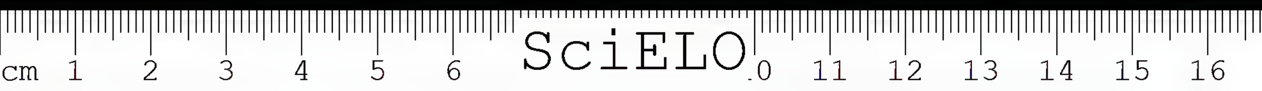
Examinaremos, agora, a tabela I onde estão indicados: as durações, em dias, de cada estádio ninfal, a duração total da fase ninfal e o periodo anual correspondente ao intervalo entre eclosão e fase adulta ou eclosão e morte, a duração total da fase adulta e o periodo anual correspondente, e, finalmente, a duração total, em dias, desde a eclosão até a morte dos 20 adultos obtidos.

O exemplar n.º 934 teve o periodo ninfal mais curto, com 375 dias, o que corresponde a um pouco mais da metade do periodo ninfal mais longo que foi o do exemplar n.º 911, com 678 dias. Este exemplar teve o 1.º (janeiro-abril), o 2.º (abril-outubro) e o 5.º (janeiro-novembro) estádios ninfais bastante longos e, embora tenha tido o 3.º (outubro-dezembro) e o 4.º (dezembro-janeiro) estádios entre os mais curtos ,isso não influiu para diminuir o período total de evolução. Ele também suportou maiores jejuns entre as refeições no 1.º (42 dias), 2.º (69 dias) e 3.º (135 dias) estádios.

O exemplar n.º 934, teve os estádios ninfais com duração média, salvo o último (janeiro-fevereiro) que foi um dos mais curtos.

Notamos ainda, que 13 exemplares levaram de 375 a 492 dias, com última ecdise nos meses de fevereiro (3 exemplares), março (3 exemplares), abril (6 exemplares e julho (1 exemplar) de 1971. Os sete exemplares restantes tiveram 663 a 678 dias, com a última ecdise em novembro de 1971.

(1) O ex. n.º 919 morreu em 6-XI-72, com vida de adulto de 366 dias e vida total de 1.024 dias. A maior vida adulta foi a do ex. n.º 913 com 457 dias, com vida total de 907 dias — Dados obtidos após entrega do original.



Não foi notada nenhuma diferença no desenvolvimento entre os sexos: os 6 machos levaram de 378 a 678 dias e as 14 femeas de 375 a 665 dias para o completo desenvolvimento.

A duração da vida total, desde a eclosão do ovo até a morte variou de 491 dias (ex. n. 928) a 763 dias (ex. n.º 924), mas os exemplares n.ºs 911, 913, 919 e 929 que ainda não haviam completado seus ciclos de vida quando encerramos as observações, já havam ultrapassado esse número de dias [1].

Na tabela II estão representados o número de refeições em cada estádio e na fase adulta. O número total de refeições na fase ninfal variou de 13 (exs. n.ºs 917 e 928) a 23 (exs. n.ºs 936 e 942), mas a maioria fez, em média, 17 a 19 refeições (12 ninfas). O número de refeições não está relacionado com a duração dos estádios ninfais; assim, examinando tres exemplares (n.ºs 919, 929 e 942) todos com 658 dias de duração da fase ninfal, vemos que o número de repastos foi de 21, 19 e 23 respectivamente: agora examinando os exemplares n.º 936 (com 441 dias de vida ninfal) e n.º 917 (com 442 dias) vemos que enquanto o primeiro fez 23 refeições, o último só fez 13, por outro lado, os exemplares n.ºs 936 e 942, ambos com 23 refeições tiveram 441 e 658 dias para o completo desenvolvimento.

O número de refeições durante a vida total variou de 15 (ex. n.º 928, que teve a menor duração de vida) a 32 (ex. n.º 936).

Os exemplares n.ºs 934 e 936 tiveram a mesma duração de vida (749 dias) e quase o mesmo número de repastos: 31 e 32, mas o exemplar n.º 936 apresentou desde a eclosão, um comportamento diferente do das demais ninfas que quando iniciavam a sugar, ficavam imóveis e só paravam a alimentação depois de saciadas ou quando molestadas; este exemplar sempre foi irriquieto, picando o doador várias vezes e raramente ficando replecto, o que talvez, tenha concorrido para o aumento de repastos da fase ninfal (23 vezes). Alem disso, as seis primeiras refeições dessa ninfa foram com sangue humano e, então, pudemos constatar que as suas picadas eram dolorosas, enquanto que as das outras ninfas eram indolores.

CONCLUSÕES

O tempo de evolução desta espécie de *Triatoma*, em condições ambientais (temperatura média de 19 a 23.º), oscila entre 1 ano a 1 ano e 10 meses. A duração de vida total, nas mesmas condições ambientais, é de aproximadamente 2 anos. [1]

Quanto ao número de refeições, a média em cada estádio ninfal foi de 3. Também notamos que uma lauta refeição não é seguida de jejum mais prolongado, havendo casos em que depois de 2 dias de uma completa replecção, a ninfa tornava a se alimentar.

A duração do repasto pouco oscilou com o desenvolvimento das ninfas: foi entre 15 (quando a ninfa alcançava um vaso sanguíneo) a 30 minutos.

(1) De 2 anos, 9 meses e 24 dias para o ex. n.º 913, dado completado após entrega do original.

Os adultos demoraram mais tempo, visto que eram inquietos, sugando em várias áreas e, também, por raramente fiearam repleetos.

É notavel a resistêneia ofereeida por este inseto a jejuns prolongados, prineipalmente, no período entre eedises, ehegando a passar aproximadamente, 7 meses (202 dias — ex. n.º 914) sem se alimentar.

Os triatomineos observados só defeeam sobre o doador quando eompletamente repleetos. Ao se alimentar, *T. pseudomaculata*, ao eontrario de *Rhodnius prolixus* (Stål), prefere uma posição vertieal afim de penetrar sua probóseide perpendicular à superfíeie eutanea, assim, para defeear, ele gira seu corpo de, 80°, depondo suas fezes quase sobre a ferida da pieada, o que aumenta a possibilidade de eontágio, se ele estiver infeetado por *T. cruzi*.

SUMMARY — *Triatoma pseudomaculata* Correa & Spinola, 1964, a species of ample distribution in Central and North east Brazil, where its infection with trypanosomes of *cruzi* type has been reported, is here studied from its eelosion to its adult stage, with notes on each stage, and data of bionomic interest, such as cedysis, duration of stages, nymphae and adults, interval between feeding, mortality, etc.

Of the Brazilian triatomids of known biology, this is the species with a larger ouration of its developmental cycle.

UNITERMS — *Triatoma pseudomaculata* Correa & Spinola, 1964: life cycle studies in laboratory: feeding data.

AGRADECIMENTOS

Queremos deixar aqui nossos agradeeimentos ao Dr. James Dobbin Jr. do Departamento de Endemias Rurais — Instituto Aggeu Magalhães, Reeife, PE, pelo ofereeimento do material vivo já identifieado e ao Dr. Lauro P. Travassos Filho do Instituto Butantan pelas inumeras sugestões.



REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. CORREA, R. R. — Informe sobre a doença de Chagas no Brasil e em especial no Estado de São Paulo. *Rev. Brasil. de Malariologia e Doenças Tropicais* **20** (1-2): 39-42, 1968.

2. DIAS, E. — Notas sôbre o tempo de evolução de algumas espécies de Triatomineos em laboratório. *Rev. Bras. Biol.* **15** (2): 157 — 158, 1955.

3. JUAREZ, E. — Observações sôbre o ciclo evolutivo do *Triatoma arthurneivai*, em condições de laboratorio (Hemiptera, Reduviidae). *Rev. Saúde públ., S. Paulo* **4** (1): 13 — 18, 1970.

4. LENT, H. e JURBERG, J. — Observações sôbre o ciclo evolutivo, em laboratório, do *Panstrongylus geniculatus* (Latreille, 1811) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *An. Acad. bras. Ciênc.* (*1969*) **41** (1): 125 — 131, 1969.

5. TRAVASSOS FILHO, L. e HEITZMANN, T. J. — Bionomia de Mantodea (Insecta) em Laboratorio 1. *Parastagmatoptera unipunctata* (Burm., 1838). Mantidae — Vatinae. *Arq. Zool. S. Paulo* **11** (8): 171-192, 1960.

Recebido para publicação em junho/72

Aceito para publicação em dezembro/72

TABELA 1

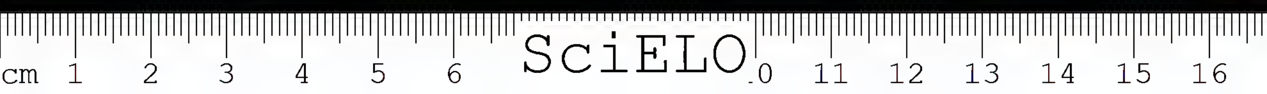
DURAÇÃO (EM DIAS) DA EVOLUÇÃO DE *T. PSEUDOMACULATA* CORREA E SPINOLA, 1964

EX. Nº	Nº de dias para cada estádio ninfal I	II	III	IV	V	VI	Nº de dias de vida ninfal	Periodo anual	Nº de dias de vida adulta	Periodo anual	Nº d dias vida total
901	52	39	236	55	90		472	7- I -1970 24-IV-1971	237	24- IV-1971 17-XII-1971	709
902	58	68	140	—	—	—		8- I -1970 1- X-1970			
903	35	81	192	79	78		465	9- I -1970 19-IV-1971	288	19- IV-1971 1- II-1972	753
904	53	41	—	—	—	—		9- I -1970 18-IV-1970			
905	43	39	63	218	41		404	9- I -1970 17- II-1971	149	17- II-1971 16-VII-1971	553
906	8	—	—	—	—	—		9- I -1970 17- I -1970			
907	8	—	—	—	—	—		9- I -1970 17- I -1970			
908	8	—	—	—	—	—		9- I -1970 17- I -1970			
909	10	—	—	—	—	—		10- I -1970 20- I -1970			
910	80	18	—	—	--	—		10- I -1970 18 -IV-1970			
911	103	184	50	42	299		678	10- I -1970 19- XI-1971		19- XI-1971	
912	11	—	—	—	—	—		10- I -1970 21- I -1970			
913	53	40	241	34	82		450	13- I -1970		8- IV-1971	

TABELA 1

DURAÇÃO (EM DIAS) DA EVOLUÇÃO DE *T. PSEUDOMACULATA* CORREA E SPINOLA, 1964

EX. Nº	Nº de dias para cada estádio ninfal I	II	III	IV	V	VI	Nº de dias de vida ninfal	Periodo anual	Nº de dias de vida adulta	Periodo anual	Nº de dias de vida total	Sexo
901	52	39	236	55	90		472	7- I -1970 24-IV-1971	237	24- IV-1971 17-XII-1971	709	♀
902	58	68	140	—	—	—		8- I -1970 1- X-1970				
903	35	81	192	79	78		465	9- I -1970 19-IV-1971	288	19- IV-1971 1- II-1972	753	♀
904	53	41	—	—	—	—		9- I -1970 18-IV-1970				
905	43	39	63	218	41		404	9- I -1970 17- II-1971	149	17- II-1971 16-VII-1971	553	♀
906	8	—	—	—	—	—		9- I -1970 17- I -1970				
907	8	—	—	—	—	—		9- I -1970 17- I -1970				
908	8	—	—	—	—	—		9- I -1970 17- I -1970				
909	10	—	—	—	—	—		10- I -1970 20- I -1970				
910	80	18	—	—	—	—		10- I -1970 18-IV-1970				
911	103	184	50	42	299		678	10- I -1970 19- XI-1971		19- XI-1971		♂
912	11	—	—	—	—	—		10- I -1970 21- I -1970				
913	53	40	241	34	82		450	13- I -1970 8- IV-1971		8- IV-1971		♀
914	49	45	100	162	33	274	663	14- I -1970 8-XI-1971	65	8- XI-1971 12- I -1972	728	♀
915	52	40	191	87	52		422	14- I -1970 12-III-1971	182	12- III -1971 10- IX -1971	604	♂
916	2	—	—	—	—	—		15- I -1970 17- I -1970				
917	62	54	187	69	70		442	17- I -1970 4- IV-1971	269	4- IV -1971 29-XII-1971	711	♀
918	76	50	186	61	—	—		17- I -1970 24- I -1971				
919	74	34	81	145	324		658	17- I -1970 6- XI-1971	366	6- XI -1971 6- XI -1972	1.024	♂
920	58	48	205	192	—	—		20- I -1970 7- VI-1971				
921	45	35	213	68	72		433	24- I -1970 2- IV-1971	161	2- IV -1971 10- IX -1971	594	♂
922	14	—	—	—	—	—		24- I -1970 7- II-1970				
923	64	53	201	45	—	—		26- I -1970 24- I -1971				
924	62	60	180	66	297		665	28- I -1970 24- XI-1971	98	24- XI -1971 1- III -1972	763	♀
925	75	222	64	79	209		649	28- I -1970 8- XI-1971	85	8- XI -1971 1- II-1972	734	♀
926	55	73	117	—	—	—		29- I -1970 1- X-1970				
927	61	34	206	56	—	—		29- I -1970 26- I -1971				
928	62	55	159	58	44		378	29- I -1970 11- II-1971	113	11- II-1971 4- VI-1971	491	♂
929	63	171	94	67	263		658	29- I -1970 18-XI-1971		18- XI-1971		♂
930	46	49	203	61	—	—		30- I -1970 24- I -1971				
931	49	46	180	65	70		410	30- I -1970 16-III-1971	322	16- III-1971 1- II-1972	732	♀
932	55	44	195	57	56		407	30- I -1970 13-III-1971	130	13- III-1971 21-VII-1971	537	♀
933	4	—	—	—	—	—		31- I -1970 4- II-1970				
934	52	38	190	59	36		375	31- I -1970 10- II-1971	374	10- II-1971 19- II-1972	749	♀
935	6	—	—	—	—	—		31- I -1970 6- II-1970				
936	48	50	202	80	61		441	31- I -1970 17-IV-1971	308	17- IV-1971 19- II-1972	749	♀
937	5	—	—	—	—	—		31- I -1970 5- II -1970				
938	54	61	213	71	93		492	31- I -1970 7- VI-1971	117	7- VI-1971 2- X-1971	609	♀
939	5	—	—	—	—	—		1- II-1970 6- II-1970				
940	52	61	190	73	—	—		1- II-1970 12- II-1971				
941	6	—	—	—	—	—		1- II-1970 7- II-1970				
942	67	175	114	73	229		658	1- II-1970 20-XI-1971	60	20- XI-1971 19- I -1972	718	♀
943	5	—	—	—	—	—		2- II-1970 7- II-1970				
944	12	—	—	—	—	—		2- II-1970 14- II-1970				
945	2	—	—	—	—	—		2- II-1970 4- II-1970				

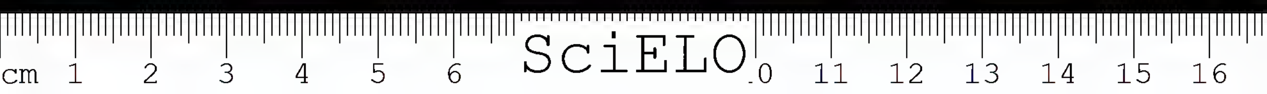

SciELO


cm 1 2 3 4 5 6 7
SciELO
11 12 13 14 15 16 17 18

TABELA II

INTERVALOS (EM DIAS) ENTRE AS REFEIÇÕES DE *T. PSEUDOMACULATA*

Ex. Nº	901	902	903	904	905	910	911	913	914	915	917	918	919	920	921	923	924	925	926	927	928	929	930	931	932	934	936	938	940	942
Estadio I	9	12	11	12	19	18	16	13	12	15	18	26	25	17	17	24	16	16	15	22	21	15	20	19	25	20	16	18	17	18
	12	8	6	1	6	7	2	21	17	14	27	18	33	11	8	25	19	14	18	24	25	17	8	9	14	11	9	9	14	13
	14	14	2	5		26	20		5			15	4	13		4	12	21		4	4	14	4	6	6	9	5	10	12	5
	5	5	6	15		14	42							2			4					4	6				3			11
		7																									4			
	12	12	10	20	18	15	23	19	15	23	17	17	12	15	20	11	11	24	22	11	12	13	8	15	10	12	11	17	9	20
Estadio II	4	4	5	8	5	8	21	5	5	3	5	10	7	5	6	8	13	10	19	8	7	11	3	5	13	1	4	13	14	7
	5	5	12	5	7	5	13	4	11	6	14	10	5	9	1	5	10	11	10	5	5	10	5	14	5	5	1	5	5	7
	10	3	9	9	6		9	4	5	4	5		10	11	3	21	11	10	11		10	34	19	5		1	14	10	10	11
		1	14	19	5		7	5		5					5			13				9				2	5			23
		5	19		4		69								19			16				7				6	10			9
		8																				49				5				7
		11																												19
		10																												30
	20	21	22		12		65	22	24	22	30	30	12	23	1	19	26	162	33	21	23	51	22	22	26	18	16	33	32	62
Estadio III	5	13	9		12		20	7	5	7	14	13	9	30	9	13	13	5	6	10	10	57	9	9	18	13	5	10	11	46
	10	35	13		10		3	21	11	11	9	7	13	26	21	7	19	13	19	29	7	10	13	13	35	6	13	7	7	31
	11	50	85		11		10	13	10	32	26	19	9	12	29	19	112	4	30	19	49		147	65		16	9	19	19	12
	10	15			10			9	13	38		12		38	31	135		23	20	30						26	7	112	72	8
	13							57		38		38			38					82						50	91		40	
	35							100							62												40			
	152		85		20		17	34	61	65	138	97	50	99	23	27	36	19		36	93	27	34	93	142	79	37	65	41	17
Estadio IV	11		7		9		4	4	109	20	25	16	6	14	26	6	33	18		13	15	5	15	12	14	13	12	14	8	20
	18		46		19		19	11	13	47	25	6	35	84	7	14	21	15		19	4	16	19	7	5	19	4	5	4	32
	7		15		135			8	15				7	73	14	14		17			14	29	16	19	4	4	3	6	31	
					28				6				40												3		12	23		
													23												13		22			
													3																	
	19		11		27		19	11	19	20	19		31		21		12	29			25	17		27	18	23	27	23		21
Estadio V	18		33		12		18	6	14	3	18		12		21		11	20			10	11		3	6	3	18	5		28
	32		10		3		15	42	3	19	15		10		29		15	36				4		11	19	12	10	13		36
							17	10			17		49				17	52				49		3				14		48
							23						66				63					88		19				26		4
							62						52				74							16						34
							135						32				59													
	40		35		26		29	24	16	30	20		103		22		58	101			34	111		18	31	21	33	35		79
Estadio VI									26																					
									19																					
									92																					
									137																					
Adulto	23		28		16		46	39		12	43		13		45		50	9			22	34		8	11	23	30	53		13
	22		22		19		43	22		76	70		14		74		40	35			19	29		92	76	19	74			19
	86		48		76		6	48		52	38		32					22				33		32		14	78			
	49		38				15	38			44		49					7				15		38		78	5			
	18		44					67			5		15											34		32	27			
	9		5					9			43													42		38	2			
			18					16																2		34	14			
			25					19																14		33	19			
			32					29																19		9	29			
								33																22		2				
								15																7		14				
																										32				
	30	27	28	5	38	5			65	42	26	38		21	42	11	8	12	42	24	72		11	12	43	46	30	64	30	28


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
11 12 13 14 15 16

Mem. Inst. Butantan
36: 263-266, 1972.

TRIATOMA WILLIAMI GALVÃO, SOUZA & LIMA, 1965, CAPTURADO EM MATO GROSSO, BR, NOVO VECTOR DA MOLESTIA DE CHAGAS

LAURO P. TRAVASSOS FILHO

Seção de Parasitologia, Instituto Butantan.

RESUMO — Um exemplar ♂ de *Triatoma williami* Galvão e Cols., 1965, foi capturado em Xavantina, MT, ampliando a distribuição geografica da espécie, até então restrita à localidade-tipo (Piranhas, GO).

O espécime era portador de formas infectantes de tripanosoma tipo *cruzi*, sendo assim mais um vector da Molestia de Chagas no Estado de Mato Grosso.

UNITERMOS - *Triatoma williami* Galvão e Cols., 1965: Hemiptera, Reduviidae, Triatominae. Primeira observação no Estado de Mato Grosso, BR. Exemplar infectado com *Trypanosoma* tipo *cruzi*.

MATERIAL EXAMINADO

Da Colcção Entomo-Parasitologica do I. Butantan:

1 ♂, n. 869, Xavantina, MT, IX-1969, L. G. M. Rosenfeld col. & of.

1 ♂, n. 870, Piranhas, GO, Parátipo, A.A B. Galvão of.

Da Coleção Dr. Archibaldo B. Galvão:

Triatoma williami: 3 ♂, Parátipos ♀ Alótipo, 1 ninfa, Piranhas, GO.

Triatoma deanei: ♂ Holótipo, 1 ninfa, Piranhas, GO.

DISCUSSÃO

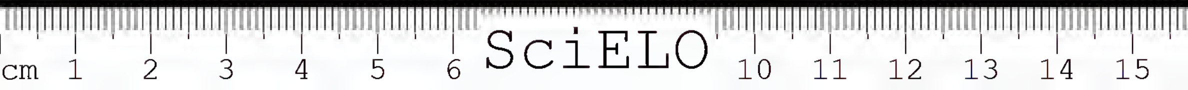
Galvão, Souza & Lima, 1965, (2) descreverem *Triatona williami* bascados em 12 machos e 4 femeas, exemplares que faziam parte de um lote de 18 "barbeiros" adultos e 2 ninfas, capturados na "casa n.º 2" da Fazenda Antonio Bueno Faria, no municipio de Piranhas, Estado de Goiás, exemplares que não apresentaram coproparasitismo.

Dois outros exemplares desse lote inicial, um easal, foram deseritos como *Triatoma deanei* tambem por Galvão, Souza & Lima, 1967 (3).

Galvão & Fuentes, 1971 (4) descreveram aquelas duas ninfas do lote capturado na "casa n.º 2", como sendo uma de *T. williami* e outra de *T. deanei*.

Correa, 1968 (1), publicou a lista dos triatomíneos brasileiros, assinalando *T. williami* ainda entre os não registrados eomo vectores da Molestia de Chagas.

C.P. 65, São Paulo, Brasil
Endereço para correspondência:



TRAVASSOS F.º, L. P. — *Triatoma Williami* GALVÃO, SOUZA e LIMA, 1965, capturado em Mato Grosso, BR., novo vector da Moléstia de Chagas. *Mem. Inst. Butantan*, 36: 263-266, 1972.

Em setembro de 1969, o Dr. Luiz Gastão Mange Rosenfeld capturou num alojamento coletivo da localidade de Xavantina, Estado de Mato Grosso, um "barbeiro" de aspecto diverso do habitual nos triatomíneos mais frequentes; o exemplar vivo foi entregue ao Dr. Gastão Rosenfeld, o qual constatou ser o mesmo portador de formas infectantes de *Trypanosoma* (S.) *cruzi*.

Enviado o inseto a Secção de Parasitologia do Instituto Butantan e não sendo possivel uma identificação imediata, fomos ao Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, onde o Dr. H. Lent, comparando com exemplares de *Triatoma williami* e *T. deanei*, ambas de Galvao & Cols., 1965 e 1967, respectimente, concluiu tratar-se de 1 ♂ da primeira espécie.

Mais tarde recebemos do Dr. Arquibaldo B. Galvão um exemplar macho da série paratípica; comparando com esse paratipo verificamos tambem que o exemplar de Xavantina é realmente um macho de *Triatoma williami* Galvão & Cols., 1965, o qual foi tombado na Coleção Entomo-Parasitologica do Instituto Butantan com o n.º 869, recebendo o parátipo ofertado o N.º 870.

Face ao encontro de "barbeiro" raro, mas de hábito evidentemente domiciliar, pois tanto o lote que permitiu a descrição da espécie como o de Xavantina, foram encontrados em residências, este último portador de formas infectantes de tripanosoma tipo *cruzi*, enviamos a Xavantina o Snr. Mario Nogueira, então técnico da Parasitologia e tambem excelente colecionador de campo, na esperança de obter mais exemplares; a passagem por essa loialidade de turma de desinsetisadores, dias antes da chega do Snr. Nogueira, prejudicou a observação, tendo sido encontrada uma única ninfa, em provavel estádio IV, e que morreu poucos dias depois, com sinais de intoxicação.

Comparada com ninfas de *T. williami* e de *T. deanei*, gentilmente cedidas pelo Dr. A. B. Galvão, verificamos não se tratar de ninfa de nenhuma dessas espécies, e sim de triatomíneo de menor porte.

Aproveitando o bom estado do exemplar de Mato Grosso, foi feito o desenho colorido que apresentamos, para possibilitar o pronto reconhecimento dessa espécie que, por se apresentar com o conexivo praticamente sem manchas, difere da grande maioria dos demais triatomíneos; face ao seu colorido preto e pardo-amarelo, bastante discreto, o *T. williami* pode ser confundido com hemípteros fitofagos ou reduvíneos predadores ,escapando às coletas de "barbeiros" feitas por pessoal técnico não especializado.

Ao assinalarmos a presença na localidade de Xavantina, Estado de Mato Grosso, do curioso e raro *Triatoma williami* Galvão & Cols., 1965, destacamos o fato de ser espécie provavelmente transmissora do *Trypasonoma* (S.) *cruzi* uma vez que, sendo de hábitos domiciliares, já foi constatado ser portadora de formas infectantes do agente da Molestia de Chagas.

ABSTRACT — A male specimen of *Triatoma williami* Galvão & Cols., 1965, up to know only known from its type-locality in the State of Goiás, was captured in Xavantina, State of Mato Grosso, extending thus it geographical distribution. As the specimen was found to carry the infectant forms of *Trypanosoma* type *cruzi* it should be included in the list of vectors of Chagas disease.

UNITERMS — *Triatoma williami* Galvão & Cols., 1965 — Hemiptera, Reduviidae, Triatominae; first observations in the State of Mato Grosso, BR. Infected by *Trypanosoma* type *cruzi* is a new vector of Chagas disease.

AGRADECIMENTOS

Aos Drs. Luiz Gastão Mange Rosenfeld e Gastão Rosenfeld pelo envio do exemplar para a Coleção Entomo-Parasitologica do Instituto Butantan e pelas valiosas informações pessoais; ao Dr. H. Lent, do Instituto Oswaldo Cruz, pela identificação do exemplar; ao Dr. Archibaldo Bello Galvão pela doação de um exemplar parátipo e emprestimos de outros exemplares de *T. williami* e *T. deanei* e respectivas ninfas, possibilitando perfeita comparação com o exemplar de Xavantina. Agradecimentos especiais a Sra. Juventina dos Santos, Desenhista-Chefe do Instituto Biológico de S. Paulo, pelo perfeito desenho colorido que ilustra o trabalho.

As comparações de exemplares e a biometria foram feitas com aparelhagem ótica adquirida com auxílio do Conselho Nacional de Pesquisas, ao qual renovamos os agradecimentos.

BIBLIOGRAFIA

1. CORRÊA, R. R. — Informe sôbre a doença de Chagas no Brasil e em especial no Estado de São Paulo. *Rev. Brasil. Malar. D. Tropicais, R. Janeiro*, **20** (1-2): 39-82, fgs., 1968.

2. GALVÃO, A. B.. SOUZA, A. H. da SILVA E & LIMA, R. R. DE — *Triatoma williami* n. sp. (Hemiptera, Triatominae). *Rev. Brasil. Malar. D. Tropicais, R. Janeiro*, **17** (4): 363-6, fgs., 1965.

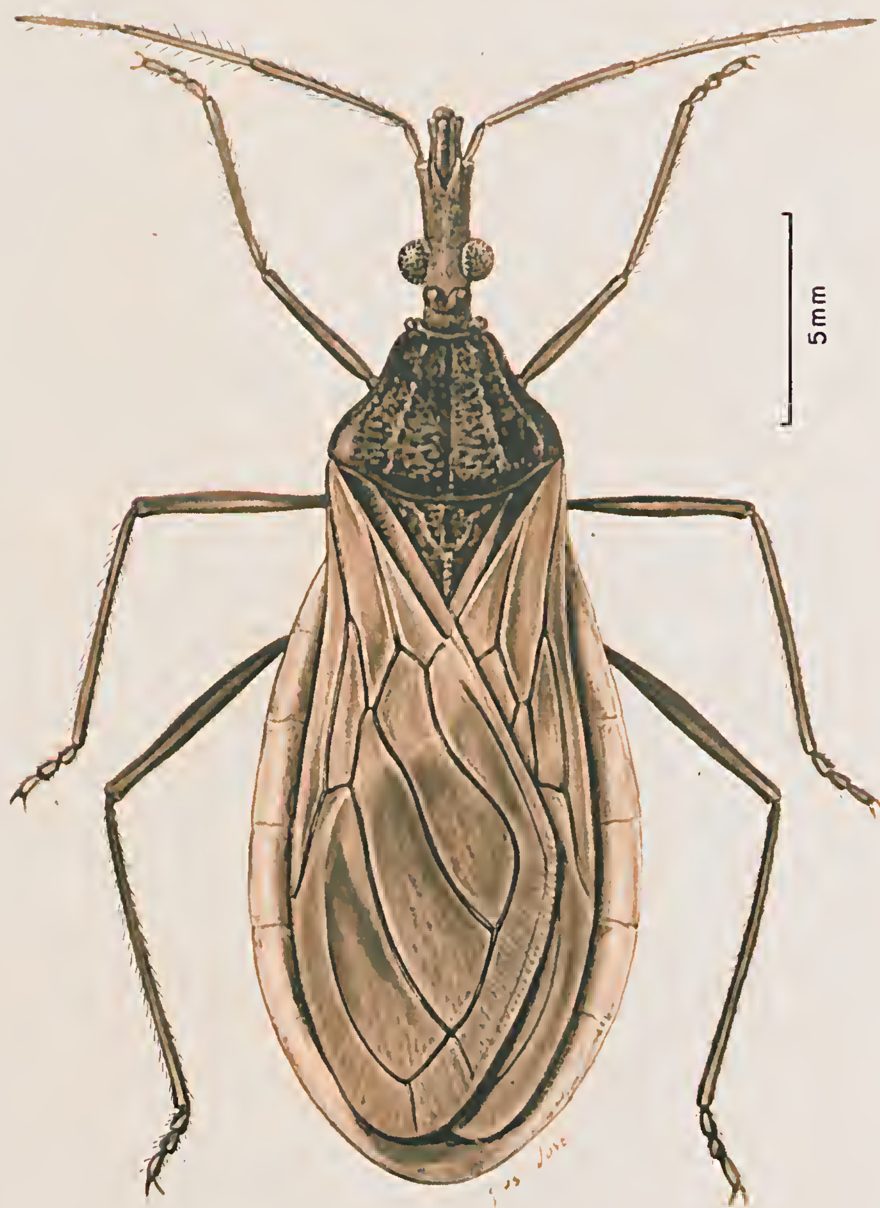
3. GALVÃO, A. B., SOUZA, A. H. DA SILVA E & LIMA, R. R. DE — Espécies de Triatominae ocorrentes em Goiás e descrição de uma nova espécie.*Rev. Brasil. Malar. D. Tropicais, R. Janeiro*, **19** (3): 397-412, fgs., 1967.

4. GALVÃO, A. B. & FUENTES, F. B. — Descrição de ninfas de *Triatoma williami* (B. Galvão & Cols., 1965) e *T. deanei* (B. Galvão & Cols., 1967). *Rev. Goiana Med., Goiania*, **17**: 141-5, fgs., 1971.

Recebido para publicação em Agosto/72

Aceito para publicação em dezembro/72

TRAVASSOS F.º, L. P. — *Triatoma Williami* GALVÃO, SOUZA e LIMA, 1965, capturado em Mato Grosso, BR., novo vector da Moléstia de Chagas. *Mem. Inst. Butantan*, *36*: 263-266, 1972.



Triatoma williami Galvão, Souza & Lima 1965
N.º 869 da Coleção Entomo-Parasitológica do
Instituto Butantan.

Mem. Inst. Butantan
36: 267- , 1972.

Nota prévia

SOBRE A POSIÇÃO SISTEMÁTICA DE *PORRIMA CALLIPODA* MELLO LEITÃO, 1934 (Aranae; Lycosidae)

WOLFGANG BÜCHERL* e SYLVIA LUCAS**

(Seção de Artrópodos Peçonhentos, Instituto Butantan)

R — Revisando o holótipo de *Porrima callipoda* Mello Leitão, 1934 (LYCOSIDAE), uma fêmea jovem de Ribeirão Claro, Mato Grosso, depositado sob o número 1002 (antigo 5) da coleção aracnológica do Instituto Butantan, concluimos que, pelo colorido, pela quetotaxia, pelas dimensões do cefalotórax e dos artículos das pernas, pela extensão das escópulas tarsais e pelo aspecto do epígino, pertence ao gênero *Tetragonophthalma* Karsch, 1878 (PISAURIDAE).

A morfologia de *Porrima callipoda* demonstra que está próxima de *T. obscura* Keyserling, 1891 e *T. freiburgensis* (Keyserling), 1871, as quais o próprio Keyserling julgava serem idênticas entre si.

BIBLIOGRAFIA

1. MELLO LEITÃO, C. F. — Tres aranhas novas nas coleções do Instituto Butantan. *Mem. Inst. Butantan,* 8: 405-407, 1934.

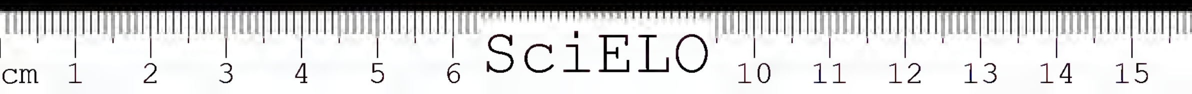
2. KEYSERLING, E. — Die Spinnen Amerikas. Brasilianische Spinnen. *3 Nürnberg,* Bauer und Raspe, 1891, Pr. I, Fig. 192.

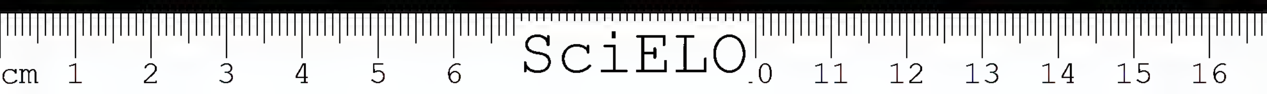
3. KEYSERLING, E. — Über amerikanische Spinnenarten der Unterordnung Citigradae. *Verh. zool. bot. Ges. Wien,* 26: 671-673, 1877.



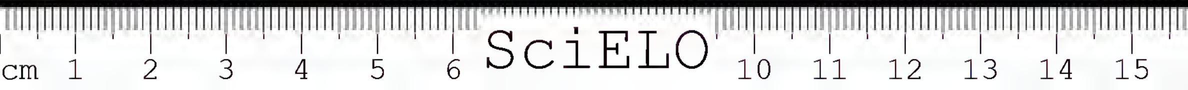

cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
11 12 13 14 15 16

ÍNDICE DE AUTORES

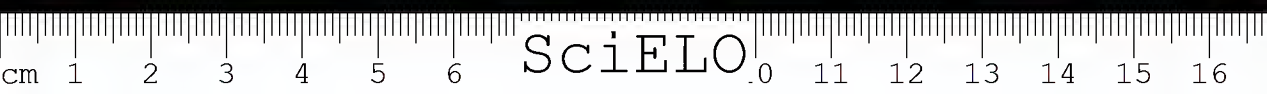



cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 11 12 13 14 15 16

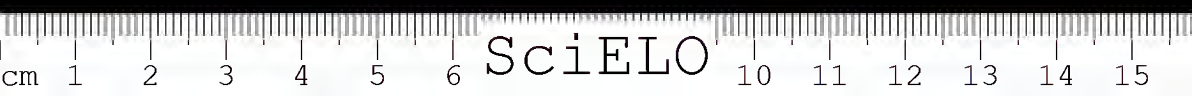
ÍNDICE DE ASSUNTOS

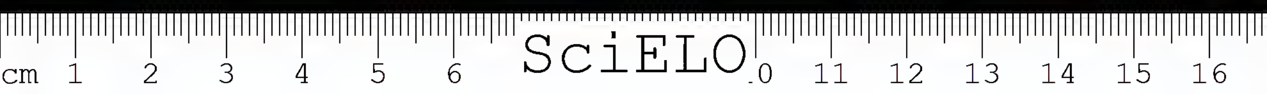


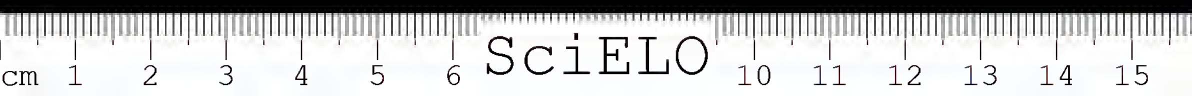

cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15

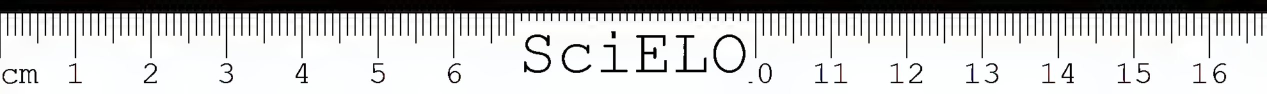

cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
11 12 13 14 15 16


COMPOSTO E IMPRESSO EM 1972, NAS OFICINAS DA
EMPRÊSA GRÁFICA DA REVISTA DOS TRIBUNAIS S.A.,
RUA CONDE DE SARZEDAS, 38, SÃO PAULO, BRASIL.




SciELO


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16